

UNIVERSITÉ DE PARIS

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

Année 1911-1912.

N° 5

UNE MUCORINÉE NOUVELLE

MUCOR NIGRANS nov. sp.

THÈSE

Pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris

(PHARMACIE)

Présentée et soutenue le Juin 1912.

PAR

M. Louis-Léon LECLÈRE

PHARMACIEN DE 1^{re} CLASSE

LAURÉAT DE L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE DE PARIS.

JURY { MM. RADAIS, Président.
COUTIÈRE, Professeur.
GUÉGUEN, Agrégé.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE LUCIEN DECLUME

1912



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550227_0018

UNIVERSITÉ DE PARIS

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

Année 1911-1912.

N° 5

UNE MUCORINÉE NOUVELLE

MUCOR NIGRANS nov. sp.

THÈSE

Pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris

(PHARMACIE)

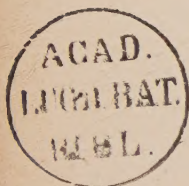
Présentée et soutenue le Juin 1912.

PAR

M. Louis-Léon LECLÈRE

PHARMACIEN DE 1^{re} CLASSE

LAURÉAT DE L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE DE PARIS.



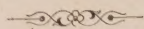
JURY { MM. RADAIS, Président.
COUTIÈRE, Professeur.
GUÉGUEN, Agrégé.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE LUCIEN DECLUME

1912

PERSONNEL DE L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE



ADMINISTRATION

MM. GAUTIER, Directeur, *, 🌿 I.
BOUCHARDAT, Assesseur, O. *, 🌿 I.
E. MUSSON, Secrétaire, *, 🌿 I.

PROFESSEURS

MM. BOUCHARDAT, O. *, 🌿 I. Hydrologie et Minéralogie.
GUIGNARD, Membre de l'Institut, O. *, 🌿 I. Botanique générale.
VILLIERS, *, 🌿 I. Chimie analytique.
BOURQUELOT, *, 🌿 I. Pharmacie galénique.
GAUTIER, *, 🌿 I. Chimie minérale.
RADAIS, *, 🌿 I. Cryptogamie.
BÉHAL, O. *, 🌿 I. Chimie organique.
PERROT, *, 🌿 I. Matière médicale.
COUTIÈRE, 🌿 I. Zoologie.
BERTHELOT, 🌿 I. Physique.
GRIMBERT, 🌿 I. Chimie biologique.
MOUREU, Membre de l'Institut, *, 🌿 I. Pharmacie chimique.
LEBEAU, 🌿 I. Toxicologie.

Directeur honoraire : M. GUIGNARD, O. *, 🌿 I.
Professeur honoraire : M. JUNGELEISCH, O. *, 🌿 I.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. GUERBET, 🌿 I.	MM. GUÉRIN, 🌿 I.
DELÉPINE, 🌿 I.	GUÉGUEN, 🌿 I.
VALEUR, 🌿 A.	LUTZ, 🌿 I.
BOUGAULT, 🌿 A.	HÉRISSEY, 🌿 I.
TASSILLY, 🌿 I.	

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DEFACQZ, 🌿 I. Chimie générale.
COUSIN, 🌿 I. Chimie analytique.
SOUÈGES, 🌿 A. Micrographie.
MOURLOT, 🌿 I. Physique.
BARTHELAT, 🌿 I. Microbiologie.

Chef du Laboratoire des examens pratiques : M. JAVILLIER, 🌿 A.
Bibliothécaire en Chef : M. DORVEAUX, 🌿 I.

INTRODUCTION.

Les *Mucorinées* sont des Champignons inférieurs que l'on rencontre un peu partout dans la nature ; on les désigne encore sous le nom de moisissures, quoique ce qualificatif ne soit pas spécifique des espèces de cette famille. L'intense dispersion de ces organismes s'explique par leur dimensions souvent infimes, l'abondance et la légèreté de leurs spores ; ces dernières doivent à la variété de leurs sécrétions diastasiques la propriété de s'adapter aux milieux nutritifs les plus divers. La spore organise un mode de vie selon les ressources que lui procure la substance animale ou végétale sur laquelle le hasard l'a placée ; ce fait a pu permettre la création d'espèces nouvelles alors que l'on se trouvait en présence de modes de végétation différents d'un seul et même champignon. Actuellement, en ce qui concerne les champignons inférieurs dont les formes végétatives sont si semblables, ce n'est qu'après avoir découvert et étudié toutes les formes que le mycélium et les appareils reproducteurs sont susceptibles de prendre sur divers milieux nutritifs qu'un organisme nouveau peut prendre place dans la Nomenclature.

Désireux de consacrer aux Sciences Naturelles et spécialement à la Microbiologie, les quelques loisirs que nous laisse notre modeste officine, nous avons cherché parmi les *Mucorinées* un sujet d'études dont les conditions expérimentales fussent en rapport avec les ressources d'un laboratoire de pharmacien. M. le Professeur RADAIS a mis d'autre part à notre disposition, pour certains de nos essais, le Laboratoire de cryptogamie de l'Ecole de Pharmacie de Paris.

Son bienveillant accueil, ses conseils éclairés nous ont particulièrement aidé ; qu'il veuille bien agréer l'expression de notre obligée et très respectueuse gratitude. M. le Professeur agrégé GUÉGUEN a réservé la meilleure réception à nos premiers essais, il nous a continué conseils et direction technique ; nous lui en témoignons ici notre reconnaissance. M. BAINIER nous a généreusement ouvert la riche Mycothèque de l'Ecole Supérieure de Pharmacie de Paris, tant pour y prélever l'espèce nouvelle que nous étudions que pour y étudier les différentes espèces qui s'en rapprochent le plus ; nous lui en exprimons notre vive gratitude.

M. SARTORY, Docteur ès Sciences, préparateur du Cours de Cryptogamie, nous a été d'un secours précieux par les renseignements qu'il nous a communiqués et les échantillons qu'il nous a procurés ; nous lui en exprimons nos vifs remerciements. A tous ceux enfin qui se sont intéressés à notre travail, nous gardons le fidèle souvenir de leurs affectueux et cordiaux encouragements.

Origine des recherches.

La Mucorinée nouvelle que nous étudions appartient au genre *Mucor* Micheli. L'échantillon type qui nous a servi de point de départ existait à la Mycothèque de l'Ecole de Pharmacie où M. BAINIER, qui l'avait isolé le premier, l'avait catalogué provisoirement sous le nom de *Mucor niger*, en attendant qu'une étude de cette moisissure vint en fixer les caractères et la classer définitivement. Nous l'avons retrouvée nous-même dans la nature sur divers milieux naturels et identifiée avec l'échantillon type. Les observations morphologiques et les essais physiologiques qui font l'objet de ce travail établissent une distinction assez nette avec les autres *Mucor* pour justifier la création d'une espèce nouvelle. Nous aurions conservé à cette espèce le nom provisoire qui lui avait été primitivement attribué s'il n'avait été de nature à amener quelque confusion dans la Nomenclature.

Un *Mucor niger* a été créé en 1893 par A. CIAGLINSKI et O. HEWELKE (1) pour désigner une Mucorinée trouvée dans un cas de *Langue Noire*. Toutefois la description et les dessins se rapportant à cette espèce correspondaient nettement aux caractères morphologiques des *Rhizopus*. L'espèce de CIAGLINSKI et HEWELKE est donc aujourd'hui rangée dans la Nomenclature sous le nom de *Rhizopus niger* (Ciagl. et Hew.) Berlese et de Toni, et la désignation de *Mucor niger* est devenue caduque. Néanmoins et

(1) *Ueber sogenannte die Schwarze Zunge*. — Zeitsch. f. klinische Med. XXII, 1893, p. 606.

pour éviter toute ambiguïté, nous avons donné à l'espèce nouvelle que nous étudions, bien différente de celle qui fut décrite par CIAGLINSKI et HEWELKE, le nom de *Mucor nigrans* nov. sp. qui rappelle le caractère morphologique de cette espèce le plus facile à constater à l'œil nu.

PREMIÈRE PARTIE.

Généralités et technique.

CHAPITRE I.

Généralités sur les Mucorinées et le genre *Mucor*. Historique et caractères généraux.

Les *Mucorinées*, qui appartiennent à l'ordre des *Phycomycètes* de DE BARY [6], se font remarquer, parmi les autres groupes de cet ordre, par la richesse de leurs moyens de reproduction. Ces champignons peuvent, en effet, se multiplier par conidies, par spores endogènes, par kystes ou chlamydospores et enfin par zygosporos ou œufs composés, engendrés par conjugaison isogame.

Le mycélium s'allonge et se ramifie sans prendre de cloisons transversales ; sa structure interne comprend une seule masse protoplasmique avec de nombreux noyaux. La membrane, dont la nature chimique a été étudiée par L. MANGIN [39], possède quelques particularités typiques. Les filaments mycéliens, ainsi que les sporangiophores,

ont une membrane constituée par deux substances : l'une, la cellulose, abonde à la partie interne ; l'autre, qui possède les réactions des matières pectiques, forme la partie externe de la membrane, celle où sont fixés les cristaux d'oxalate de calcium.

Les sporanges, de colorations diverses et dont la forme peut servir dans une certaine mesure à la classification, constituent l'appareil reproducteur le plus constant ; ils sont tantôt globuleux avec une quantité plus ou moins grande de spores plurinucléées ; tantôt ils ont la forme de tubes étroits ne contenant qu'un rang de spores en chapelet. Une cloison sépare le sporange du filament qui le porte ; lorsqu'elle se voute en dedans en forme de petite colonne, on la désigne sous le nom de *columelle* ; ses formes assez variées donnent d'importants renseignements taxonomiques. La présence de la columelle constitue un caractère commun à deux tribus de la famille des Mucoracées : les Pilobolées et les Mucorées. Cette dernière tribu se différencie de la première par la structure du sporange dont la membrane est homogène chez les Mucorées, hétérogène chez les Pilobolées. La tribu des Mucorées est la plus riche en genres distincts qui se séparent au moyen de caractères tirés des sporangiophores, de la structure des sporanges et de celle des zygospores. On y comprend ainsi les genres :

Mucor (MICHELI [40]), *Phycomyces* (KUNZE [32]), *Spinellus* (VAN TIEGHEM [52]), *Sporodinia* (TULASNE [50]), *Rhizopus* (EHRENBERG [19]), *Absidia* (VAN TIEGHEM et LE MONNIER [51]), *Thamnidium* (LINK).

Le genre *Mucor* créé, il y a près de deux siècles, par le savant italien MICHELI [40] qui en donne une description et un dessin, a été étudié cent ans plus tard par LINK [37]. Depuis lors et jusqu'au milieu du XIX^e siècle, l'imperfection des méthodes d'investigation incitaient les auteurs à considérer le genre *Mucor* comme l'aboutissant ou

le point de part du polymorphisme des champignons : par exemple, après diverses métamorphoses, la levure se transformait en *Mucor*. BAIL [1], en 1857, ramène à des interprétations plus limitées les affirmations précédentes. Il laisse à l'air du malt cuit et y constate le développement de deux *Mucors* un peu différents ; semés dans du moût de bière, ces deux organismes s'y développent en bourgeonnant et les bourgeons produits sont soumis au même mode de germination. C'était la très importante découverte de la végétation en forme de levure de certains *Mucors*. HOFFMANN [28] confirme les résultats de BAIL, disant que la levure n'est pas une forme autonome mais un état végétatif du mycélium du *Penicillium glaucum* et plus rarement du *Mucor racemosus*.

Ce n'est guère que depuis une quarantaine d'années qu'on a une idée de la délimitation exacte du genre *Mucor* avec DE BARY [6] qui s'oppose à la conception du polymorphisme *Penicillium-Mucor-Levure* ; son élève WORONIN [7] répond, au nom du Maître, qu'il se refusera d'admettre la transformation des levures en *Mucor* ou *Penicillium* tant qu'il ne l'aura pas vue s'effectuer sous le microscope. DE BARY considère tous les vrais *Mucor* comme de simples variétés d'une seule et même espèce le *Mucor Mucedo*. Avant que les méthodes techniques de cultures pures ne fussent créées et n'eussent atteint le haut degré de perfectionnement qui en font aujourd'hui des instruments précieux et sûrs pour exécuter de si délicates recherches, d'illustres mycologues se sont laissés induire en erreur dans l'interprétation de leurs expériences. KLEIN [31] affirmait la transformation des *Pilobolus* en *Mucor*. La cause de son erreur provenait de ce que, faisant ses cultures dans une goutte de jus de fruit simplement recouverte d'une lamelle, il faisait porter ses investigations sur ce qui se passait au pourtour de ladite lamelle, par conséquent dans la région la plus exposée à l'arrivée des spores étrangères.

BREFELD, O. [13] publie ses recherches sur le *Mucor Mucedo* et ramène à trois le nombre de ses fructifications : sporanges, zygospores, conidies. Il se servait des cellules closes en verre soufflé fabriquées par GEISSLER pour abriter ses cultures des contaminations extérieures. Presqu'en même temps, VAN TIEGHEM et LE MONNIER [51], utilisant des cellules formées d'anneaux fermés en dessus et en dessous par une lame et une lamelle de verre, réussissaient à semer une spore dans une goutte de liquide nutritif et rectifiaient ainsi certaines de leurs interprétations sur les *Mucorinées*. L'avènement de ces méthodes d'investigations, méthodes scientifiques par excellence fit reculer la théorie du polymorphisme étendu, qu'on tendait à admettre à cette époque. L'étude des champignons inférieurs ne pouvait qu'y gagner et le genre *Mucor* en a efficacement profité. Il comprend les moisissures les plus répandues, aussi les espèces en sont nombreuses ; LENDNER, ALF. en décrit une cinquantaine dans sa monographie des *Mucorinées* de la Suisse, parue en 1908. On les rencontre un peu partout, au moins à l'état de spores ; il en a été trouvé jusque dans la boue des glaciers. Le pouvoir germinatif des spores, variable avec les espèces, s'étend de trois mois — *Mucor Mucedo* — à dix mois — *Mucor racemosus* — et même davantage. Sur presque toutes les matières en décomposition il est possible de voir se développer des espèces du genre *Mucor* ; fréquemment elles sont accompagnées de bactéries.

Les excréments, tant des herbivores que des carnivores semblent être le milieu d'élection de ces organismes ; cependant, en ce qui concerne les fèces des carnivores, la quantité considérable des bactéries de la putréfaction entrave, quelquefois, complètement le développement de ces champignons. Les fruits de maturité avancée sont aussi des supports de prédilection, surtout les fruits sucrés.

Un *Mucor* comprend : un mycélium qui se développe

d'abord en dedans du substratum et fait ensuite saillie au dehors en développant, un thalle aérien et des sporangiophores dont les ramifications obéissent à certaines lois taxonomiques. Tout d'abord non cloisonnés, les filaments mycéliens âgés peuvent isoler des parties jeunes certains articles où le protoplasme granuleux est remplacé par des gouttelettes d'huile. Les sporangiophores qui émergent du mycélium sont simples ou ramifiés; leur ensemble fructifère constitue des inflorescences qui peuvent être définies ou indéfinies, en cymes, en grappes ou en corymbes. Les sporangiophores terminaux sont tantôt dressés, tantôt incurvés en crosse. Les sporanges affectent généralement la forme sphérique, et sont toujours pourvus d'une columelle interne; ils sont polysporés, tantôt uniformes, tantôt de dimensions variées pour une même espèce. Lorsque les sporangiophores sont ramifiés, ils peuvent donner un sporange principal et des sporanges secondaires. Ces derniers peuvent être pédonculés ou sessiles sur l'hyphe principale. La membrane des sporanges n'est pas cuticularisée, mais incrustée de cristaux d'oxalate de chaux qui la rendent très friable à la dessiccation. Généralement diffuse à la maturité du sporange, par dissolution de la callose qui s'y localise dans toute son étendue ou partiellement, la membrane disparaît en totalité ou laisse une collerette adhérente à la base de la columelle. La columelle existe toujours, elle peut affecter des formes différentes qui se montrent assez constantes dans une même espèce; elle est peu colorée ou incolore.

Les spores rondes ou ovales peuvent présenter ces deux formes dans le même sporange ou se localiser dans des sporanges différents; leurs dimensions peuvent varier, leur membrane est lisse, leur coloration, généralement pâle, n'est souvent sensible que lorsqu'elles sont réunies en amas; elles possèdent une réfringence souvent considérable; elles sont plurinucléées.

Les chlamydospores, auxquelles on peut attribuer la valeur biologique de boutures, et qui sont, comme les spores, plurinucléées, se forment par condensation du protoplasme aussi bien à l'intérieur des filaments mycéliens que dans le sporangiophore ou même la columelle, après déhiscence du sporange. Elles sont mises en liberté par destruction du tube qui les contient et, grâce à leur membrane épaisse qui les protège, constituent un mode de conservation très précieux pour la plante.

Les zygosporos, qui représentent l'appareil sexué, sont produites par conjugaison de deux diverticules issus des filaments mycéliens ; après la conjugaison des gamètes, l'œuf reste relié au mycélium par les restes des progamètes qui portent le nom de suspenseurs. On suppose qu'il existe dans ces conjugaisons, en apparence isogames, une sexualité hétérogamique obscure qui se manifeste par la faculté que possèdent certains thalles d'entrer ou non en conjugaison (BLAKESLEE) [8].

Chez certaines espèces, mises en contact avec des milieux sucrés dans certaines conditions d'aération, les filaments mycéliens peuvent se cloisonner de manière à former une série d'articles disposés en chapelets. Ces articles, en forme de levûres susceptibles de bourgeonner en plusieurs points de leur surface, jouent, dans les liquides sucrés, le rôle de ferment alcoolique faible.

Par des caractères morphologiques tirés de l'appareil sporangial et des zygosporos, on peut distinguer les uns des autres les genres de la tribu des *Mucorées*. Les *Circinella*, possédant des sporangiophores ramifiés en sym-pode, ont des sporophores secondaires uniques ou groupés toujours circinés. Les hyphes fructifères des *Phycomyces* ne sont pas ramifiées, elles ont un éclat métallique verdâtre ou vert-olive ; les zygosporos des espèces de ce groupe ont des suspenseurs spinescents.

Le genre *Spinellus* est caractérisé par un mycélium épi-

neux dans sa portion aérienne où se forment les zygos-pores. Ces appareils sont aussi aériens chez les *Sporodinia* qui ont en outre des sporangiophores dichotomiques.

Dans les *Rhizopus*, les hyphes fructifères sont réunies en faisceaux aux points où le mycélium aérien, végétant en stolons, émet dans le milieu nutritif une touffe de rhizoïdes; les spores sont fréquemment striées longitudinalement. Le genre *Absidia* se distingue du précédent par l'insertion des bouquets de sporangiophores sur les arcades de stolons traçants. Enfin, le genre *Thamnidium* comprend les espèces où les sporanges sont de deux sortes dans la même inflorescence. L'un, terminal, est gros et multispore; les autres, nombreux, sont petits et paucispores.

Plusieurs de ces genres admettent des sous-genres sous forme de sections.

Leur ensemble ne groupe pas moins d'une centaine d'espèces, dont le genre *Mucor* fournit plus de la moitié à lui seul.

La tribu des Pilobolées, où le sporange est, comme chez les Mucorées, pourvu d'une columelle, s'en distingue par la nature hétérogène de la membrane d'enveloppe de ce sporange, laquelle est cutinisée au sommet et diffluite à la base.

La columelle fait défaut dans les autres Mucorinées, qui peuvent constituer deux autres tribus.

Les *Mortiérellées* ont des sporanges sphériques, multi-spores, sans columelle, dont la membrane n'est pas incrustée d'oxalate de chaux; elle est diffluite comme chez les Mucorées. Les *Mortiérellées* se multiplient en outre par conidies. Les sporanges des *Syncéphalées* ont une forme cylindrique, ils sont toujours groupés, en nombre plus ou moins considérable, affectant la forme d'une capitule. Certaines espèces donnent aussi des conidies.

Nous résumons, dans le tableau suivant, les caractères

saillants qui permettent de classer comme il suit la famille des **Mucoracées** ou **Mucorinées**.

MUCORINÉES.

Champignons à thalle siphoné, cœnocytique, se multipliant par spores endogènes, par chlamydospores ou kystes, par conidies et par zygospires.

Sporanges sphériques.	{	Une columelle	{	Sporanges à paroi hétérogène.....	{	Pilobolées.	
		Pas de conidies		Sporanges à paroi homogène.....		Mucorées.	
	{	Pas de columelle. — Des conidies ...			{	Mortierellées.	
		Sporanges cylindriques.....				Syncéphalées.	

Caractères biologiques des Mucorinées.

Parmi les propriétés biologiques des espèces du genre *Mucor*, il en est deux particulièrement intéressantes : leur pouvoir pathogène, leur pouvoir fermentaire.

Le pouvoir pathogène de certains *Mucor* est certainement intéressant à connaître. Pour que leurs spores puissent s'introduire et germer dans les organes, il leur faut passer par le réseau capillaire de l'appareil circulatoire humain ou animal ; leurs dimensions doivent être réduites et l'on peut remarquer que, chez les espèces pathogènes, elles sont en général d'un diamètre voisin de celui des hématies.

On a signalé depuis longtemps des moisissures dans le corps des animaux où elles semblent jouer un rôle pathogène. Les observations qui se rapportent aux Mucorinées sont peu précises jusqu'en 1884, époque à laquelle LICHTHEIM publia un important mémoire sur l'action pathogène de ces champignons vis-à-vis des animaux de laboratoire. Plus tard, les travaux de LINDT, de

STANGE, de KLISSITCH, de LUCET et COSTANTIN, de BARTHELAT, complétèrent ces données expérimentales, en précisant le mode d'action du parasite et en faisant connaître les espèces douées de propriétés pathogènes bien établies. Quant au mucormycoses spontanées, on en connaît peu de cas bien étudiés, tout au moins en ce qui concerne les mycoses généralisées dans les tissus profonds. Nombreux, au contraire, sont les cas où des Mucorinées ont été rencontrées dans les conduits aérifères des oiseaux ou même dans les cavités naturelles de l'homme, telles que le conduit auditif.

Les espèces pathogènes aujourd'hui connues comprennent un petit nombre d'espèces, parmi lesquelles il faut citer : *Mucor corymbifer* F. Cohn. ; *Mucor pusillus* Lindt ; *Mucor Truchisi* Lucet et Costantin ; *Mucor Regnieri* Lucet et Costantin ; *Rhizomucor parasiticus* Lucet et Costantin ; *Mucor rhizopodiformis* F. Cohn.

Toutes ces espèces, à spores petites, ont des sporangio-phores plus ou moins ramifiés et un optimum de développement vers 37°-38°.

Toutefois, la propriété de se développer à haute température n'entraîne pas forcément des propriétés pathogènes puisque le *Rhizopus nigricans*, inoffensif pour les animaux, peut végéter au delà de 50°.

Les infections se font par les spores, à la condition qu'elles soient introduites dans le torrent circulatoire.

A côté de ces propriétés nocives de certaines Mucorinées, il faut signaler leurs propriétés utiles et notamment celles qui dérivent de leur pouvoir ferment vis-à-vis des liquides sucrés.

Certaines espèces de *Mucor*,ensemencées dans des solutions glucosées, s'y développent en provoquant la formation d'alcool ; la quantité produite varie avec les espèces. Dès 1857, BAIL [1] avait attribué au *Mucor racemosus* Fresenius, la propriété de provoquer la fermentation al-

coolique ; GAYON [21], beaucoup plus tard, en 1878, reconnaît aux *Mucor spinosus* (VAN TIEGHEM) [53] et *Mucor circinelloides* (VAN TIEGHEM [52], un pouvoir semblable. Toutefois, la faculté de dédoubler les levures en alcool et acide carbonique n'est pas aussi développée que chez les levûres vraies.

Par contre, on trouve, chez certains *Mucor*, la propriété de transformer l'amidon et les dextrines en sucres fermentescibles, que ces mêmes mucors pourront ensuite transformer partiellement en alcool.

D'autres propriétés biologiques figurent à l'actif d'un certain nombre d'espèces de *Mucors* par production d'enzymes : présure, caséase, amylase, inulase, gélatinase, trypsine, etc. Nous y reviendrons à propos de l'espèce qui fait l'objet de cette étude.

CHAPITRE II.

Technique générale.

§ 1. Technique pour l'étude morphologique.

Nous avons utilisé pour nos recherches un grand nombre de milieux, en choisissant autant que possible ceux dont la composition est facile à définir. L'avantage de l'emploi de liquides nutritifs définis s'explique aisément par la constance de la composition chimique qui demeure en partie ignorée avec les milieux naturels. Ainsi l'eau de levure, les moûts de bière, de raisins, les sucres de fruits, les décoctions de végétaux ou d'excréments présentent le grave inconvénient d'avoir une composition chimique essentiellement variable. La supériorité des milieux artificiels, préparés avec des produits purs, opposés à des milieux naturels, est incontestable; en outre, l'adoption de ces milieux artificiels, à formules toujours semblables, permettra à des expérimentateurs différents de se contrôler mutuellement.

Il sera également possible de faire subir des épreuves bien déterminées à un organisme afin de mettre en évidence ses diverses fonctions, en un mot l'examiner aux points de vue morphologique, physiologique et biologique, suivant des règles conventionnelles, répondant ainsi aux indications d'unification des méthodes de culture proposées pour la détermination de ces organismes. Alf. LENDNER [33], dans son récent travail sur les *Mucorinées* de la

Suisse affirme que les liquides de RAULIN, neutre et acide, convenant parfaitement pour les moisissures appartenant aux *Périsporiacées*, sont beaucoup moins favorables aux *Mucorinées*. Nous ferons remarquer qu'il est inexact de donner sous le nom de Raulin le milieu de culture dont il publie les formules et dont il a fait certainement usage, car ce n'est pas le liquide de Raulin habituel. Ce dernier contient onze substances lorsqu'il est acide, dix seulement lorsqu'il est neutre, les formules de Alf. LENDNER n'en comprennent respectivement que huit et sept [Voir son Mémoire]. Ce sont les sulfates de fer et de zinc, le silicate de potasse, qui sont supprimés. Or RAULIN [42] a démontré lui-même qu'on ne pouvait retrancher de sa formule le sel le plus inutilisable en apparence sans que la culture de l'*Aspergillus niger*, qu'il a expérimenté dans ce but, s'abaisse considérablement. Récemment JAVILLIER [29] confirmait les affirmations de RAULIN en démontrant que les cultures du même organisme atteignent leur maximum de luxuriance lorsqu'une proportion de $\frac{1}{1.000.000}$ à $\frac{1}{25.000}$ de zinc se trouve incorporée au milieu nutritif. Dans le liquide de Raulin, la quantité de zinc indiquée est de $\frac{1}{45.000}$; conséquemment, il ne peut ni ne doit être supprimé du milieu qu'on nomme liquide de Raulin. Pour éviter toute ambiguïté, nous donnerons la formule exacte des milieux de culture que nous avons employés.

RAULIN, en 1870, donnait la formule de son milieu normal pour la culture de l'*Aspergillus niger*.

LIQUIDE DE RAULIN.

Sucre candi	70 grammes
Acide tartrique	4 gr.
Azotate d'ammoniaque	4 gr.
Phosphate d'ammoniaque	0,60

Carbonate de potasse	0,60
Carbonate de magnésie	0,40
Sulfate d'ammoniaque	0,25
Sulfate de fer.....	0,07
Sulfate de zinc	0,07
Silicate de potasse.....	0,07
Eau distillée	1500 grammes

LUTZ et GUÉGUEN [38] donnaient, en 1900, la composition d'un liquide de Raulin modifié dit :

RAULIN NEUTRE.

Sucre candi.....	70 grammes
Tartrate neutre de potasse.....	6,50
Azotate d'ammoniaque.....	4,50
Phosphate de potasse.....	0,60
Carbonate de magnésie	0,40
Sulfate de potasse	0,25
Sulfate de zinc	0,07
Sulfate de fer.....	0,07
Silicate de potasse.....	0,07
Eau distillée	1500 grammes

Filtrer après dissolution complète des substances, que l'on favorise par un chauffage modéré et une agitation fréquente.

La transformation de ces deux liquides en milieux solides s'obtient en y faisant dissoudre, au bain-marie, à une douce chaleur, en remuant sans cesse, 10⁰/₀ de leur poids de gélatine blanche extra-fine, préalablement coupée en petits morceaux, filtrant sur papier disposé dans un entonnoir à B.M.

Pour obtenir la solidification au moyen de la gélose, on se sert du même procédé, mais la proportion d'Agar-Agar n'est que de 2⁰/₀.

Comme source d'azote organique nous avons eu recours à l'urée. Cette substance se transforme en carbonate

d'ammoniaque sous l'influence d'agents divers, en particulier d'une diastase. La sécrétion d'uréase, enzyme capable de provoquer cette transformation, constitue une propriété biologique importante. Le milieu à base d'urée était ainsi préparée :

Raulin neutre sans azotate d'ammoniaque.....	1500 grammes
Urée.....	3,375

Les organismes inférieurs se comportent de diverses manières vis à vis des matières sucrées ; en remplaçant, dans le Raulin neutre, le saccharose par le glucose, le lévulose, le maltose, le galactose, le lactose, on obtiendra des milieux de culture permettant de rechercher l'action du champignon sur chacun de ces sucres. Ici encore il convient d'employer un liquide neutre, afin d'éviter la modification possible de la molécule de certains d'entre eux, en présence d'un acide, sous l'influence de la température exigée par la stérilisation.

De même, pour la recherche de l'action sur les polysaccharides, tels que l'amidon, l'inuline, on délaie la substance dans le liquide de Raulin neutre non sucré.

Il est commode de préparer d'avance la solution des substances minérales salines entrant dans la composition tant du liquide de Raulin normal que dans celle du Raulin neutre, de façon à avoir toujours sous la main un liquide permettant une préparation extemporanée par simple addition de l'aliment azoté et hydrocarboné choisi. Cette solution est d'une préparation aisée et sa conservation d'une durée assez longue pourvu qu'elle ait été portée à l'ébullition pendant quelques minutes.

Lait. — Parmi les liquides naturels, le lait est le seul que nous ayons retenu ; sa préparation se réduit à une stérilisation à 110° du lait préalablement écrémé.

Décoction de pruneaux. — Ce milieu nutritif, fréquemment employé par divers mycologues, doit sa faveur aux éléments constitutifs de ces fruits secs, en particulier au glucose qu'on y trouve en notable proportion. Cette décoction répond à 12,5 de fruits pour 100 de liquide obtenu après ébullition régulière de 1/4 d'heure ; à 25 $\frac{0}{10}$ de pruneaux, la consistance de la liqueur est sirupeuse.

Décoction de crottin de cheval. — Ce milieu de culture s'obtient en prenant du crottin frais de cheval nourri au foin, le faisant bouillir à raison de 10 $\frac{0}{10}$ de liqueur qu'on filtre après 10 minutes d'ébullition.

Milieux solides.

Les carottes, pommes de terre, topinambours, sont des substratums particulièrement propices à la culture des *Mucorinées* en général. Nous les avons fréquemment employés ; ils constituent des supports azotés à substances hydrocarbonées prédominantes : la carotte offrant amidon et sucre ; la pomme de terre dans laquelle domine l'amidon et que l'on peut enrichir en ajoutant 1/10 de glycérine ; le topinambour contenant surtout de l'inuline ; enfin la betterave, particulièrement riche en sucre, et la banane qui renferme, outre des substances azotées et hydrocarbonées, des graisses.

Leur préparation se résume à tailler, dans le végétal choisi, des parallépipèdes de dimensions suffisantes pour être introduits, à frottement contre les parois, dans des tubes à cultures de Roux, après avoir été préalablement lavés dans l'eau distillée, afin de faire disparaître les traces de fer provenant du couteau, et égouttés ensuite sur du papier buvard.

Nous avons aussi employé le pain. La mie de pain de froment, desséchée puis pulvérisée, est disposée en une

couche uniforme dans un cristalliseur et humectée d'eau distillée, ainsi que l'indique SALOMONSEN [46].

Pour préparer la farine de lin, nous avons pris cette farine, fraîchement moulue, délayée à l'eau distillée bouillante en consistance pâteuse ; la bouillie ainsi obtenue est disposée sur une soucoupe dans un cristalliseur à couvercle.

L'empois d'amidon, préparé selon la technique de LUTZ et GUÉGUEN [38], en choisissant de l'amidon de riz, à cause de la régularité et de la petitesse de ses grains, longuement lévigné à l'eau distillée, séché à basse température, additionné ensuite dans la proportion de 1 pour 4 de liquide de Raulin neutre non sucré.

La préparation de la gelée d'inuline a été calquée sur celle que nous venons de décrire pour l'empois d'amidon.

Stérilisation des milieux.

Afin d'obtenir des garanties aussi nombreuses qu'efficaces de la stérilité préalable de nos milieux de culture, les récipients devant les contenir — après lavage, rinçage à l'eau distillée et égouttage, ont tous été passés au four à flamber avant l'introduction des substratums. Leur stérilisation a différé selon leur nature ; mais, pour tous les vases qui le permettaient, nous avons employé le bouchage au coton cardé recouvert d'une capsule d'étain autant que faire se pouvait.

Les liquides de Raulin, les tubes de carotte, les décoctions de pruneaux ou autres, le moût de bière, le pain, la bouillie de farine de lin ont été stérilisés à l'autoclave à 120°, en maintenant cette température pendant dix minutes. Les Raulins solidifiés par la gélatine ont subi la température de 115° pendant 1/4 d'heure ; les mêmes liquides à base de gélose n'ont subi qu'une température de 110°,

parce que cette dernière substance en présence d'un acide s'hydrolyse en partie à de hautes températures de stérilisation. Les bananes, topinambours, pommes de terre, afin de ne pas être retirées de l'autoclave à l'état pâteux ne sont portées qu'à 110° en prolongeant la durée de l'action de la chaleur jusqu'à 20 et même 25 minutes. Il en a été de même pour les gelées d'amidon et d'inuline.

L'opération de la stérilisation réalise en outre la coction des supports végétaux.

La nécessité de recourir à une stérilisation efficace que seul l'autoclave assure, a été mise en relief par MIQUEL et CAMBIER [41] « L'ébullition et même des températures de 70-80° semblent souvent suffire pour priver de germes les liqueurs nutritives minérales ; en effet, après ce traitement, on les voit rester indéfiniment limpides si on les soustrait à toutes causes de contamination directe, mais ce n'est là qu'une illusion. Les germes qui ont été respectés par les températures égales ou inférieures à 100° sommeillent, seulement, dans ces liqueurs et lorsqu'on y sème des levûres ou des spores de moisissures les substances albuminoïdes que ces microphytes sécrètent dans la liqueur favorisent l'éclosion des germes simplement endormis et le milieu minéral se remplit de bactéries. »

Certains composés, comme le lévulose, subissent une modification profonde sous l'influence de la chaleur ; la stérilisation des milieux dont ils font partie ne peut être opérée par l'autoclave ; la filtration à la bougie, préalablement éprouvée et stérilisée, donne des garanties suffisantes ; on peut encore recourir à la tyndallisation.

Enfin, comme milieux solides, on se sert de tranches de fruits. La première précaution à prendre pour effectuer des cultures pures sur la masse charnue des fruits crus consiste : d'abord à les laver avec soin, après avoir constaté l'intégrité de leur épiderme ; ensuite à les plonger

durant quelques heures dans une solution chlorurée de sublimé à 2 ‰. Les fruits essuyés, à leur sortie du liquide antiseptique, avec du papier buvard stérilisé sont divisés avec un couteau flambé et les morceaux obtenus sont introduits dans des cristallisoirs à couvercle rodé ou des tubes à culture avec un peu d'eau stérile destinée à prévenir la dessiccation de la surface ensemencée.

Cultures cellulaires.

La construction d'une cellule se résume à prendre un anneau de verre, dont le diamètre peut varier selon les circonstances, à le souder sur une lame porte-objet au moyen d'une très légère couche de Ripolin blanc. Lorsque l'une des sections de l'anneau est enduite de la peinture laquée, on l'applique sur la lame en exerçant une pression raisonnable de façon à n'avoir que la plus petite quantité d'adhésif, l'excès en est enlevé par essuyage ; on laisse sécher d'abord à l'air puis à l'étuve. Il est nécessaire de préparer les cellules longtemps à l'avance afin que l'odeur des composants du Ripolin soit absolument dissipée. La stérilisation de cet ensemble s'obtient par simple passage dans la flamme d'un bec Bunsen. La partie supérieure ou plafond de la cellule, à la face inférieure de laquelle on dépose une goutte du milieu nutritif choisi, est constituée par une lamelle couvre-objet de dimensions supérieures à celles de l'anneau sur les bords duquel on la fixe par quelques gouttelettes d'huile de ricin, dont la solubilité dans l'alcool assure un nettoyage facile.

Action de l'agitation.

Nous nous sommes servis à cet effet de l'appareil indiqué par SARTORY et qui existe au laboratoire de

Botanique cryptogamique de l'Ecole supérieure de Pharmacie de Paris.

Il se compose d'un socle de bois solidement vissé sur une table et supportant un pied métallique, le long duquel peut se fixer, à diverses hauteurs, à l'aide d'un collier de serrage, une tige cylindrique horizontale formant potence; cette tige sert de suspension, par l'intermédiaire de deux bandes de laiton verticales et parallèles, à un plateau porte-objet.

Ce plateau, qui au repos est horizontal, est percé de séries concentriques de trous, recevant des chevilles de bois entre lesquelles on cale les récipients de différentes dimensions. C'est là un procédé fort simple qui a l'avantage de donner de bons résultats. Sous le disque porte-objet est fixé un crochet pouvant être attaché à une bielle actionnée par un moteur à eau. Ce moteur peut faire 120 tours à la minute. Le mouvement de va et vient est communiqué à la bielle par un excentrique à diamètre variable qui reçoit le mouvement du moteur par l'intermédiaire d'un arbre à transmission démultipliante. Pour régulariser l'agitation et donner de la souplesse au mouvement, la bielle est constituée par un simple ressort à boudin. Un ressort de rappel en caoutchouc, exerçant sa traction en sens inverse de la bielle, permet au système oscillant d'obéir instantanément aux impulsions reçues du moteur.

La période des oscillations était mesurée à l'aide d'un métronome.

Nous avons examiné les cultures dans toutes leurs parties, tant dans leur aspect macroscopique que microscopique. Nous avons également signalé des faits biologiques de nature à différencier l'espèce que nous avons isolée d'espèces voisines pouvant rentrer dans le même groupe.

Examen microscopique.

Il a lieu avec ou sans coloration, après fixation; contraint, en effet, de suivre une technique ne déformant pas ces plantes si fragiles, nous avons fait usage comme agents de fixation, de la chaleur, du liquide de Flemming, de l'acide picrique à saturation, du picroformol.

Pour l'examen sans coloration, on peut simplement monter à l'eau, mais nous avons toujours préféré la méthode de CROOSKSHANK [17], consistant : à déposer sur la lame une goutte de glycérine, sur la lamelle une goutte d'alcool dans laquelle on immerge les filaments mycéliens, qui s'y déroulent, s'y étalent; renversant ensuite la lamelle sur la lame, on porte le système au-dessus d'une flamme jusqu'à apparition de bulles gazeuses; après refroidissement, on examine.

Lorsque la préparation doit être conservée quelque temps, la glycérine gélatinée est un moyen de montage avantageux. Déposant sur la lame un peu de cette gelée, chauffant en-dessous pour la faire fondre, sans provoquer la formation de bulles au sein de la masse liquéfiée, y transportant l'objet, recouvrant d'une lamelle chauffée, en la passant rapidement dans la flamme d'un bec Bunsen, on laisse refroidir la préparation.

Pour les cultures agitées, nous avons suivi la technique de SARTORY [47], 2 procédés:

1° L'inclusion en paraffine;

2° La dissociation à l'aiguille.

Dans le premier cas, les sphères mycéliennes étaient traitées successivement par l'alcool à 30-40-50-60-80-90° — alcool absolu — puis plongées dans le xylol et incluses dans la paraffine. Le bloc ainsi obtenu était placé sous le microtome.

Les coupes en séries étaient colorées par les procédés que nous indiquerons à cet article.

2° La dissociation. Relativement facile, elle se faisait sur des coupes radiales au moyen de fines aiguilles.

Coloration.

Le colorant de choix est le bleu lactique, de conservation indéfinie et d'emploi très facile; il a en outre l'avantage de fournir des préparations transparentes. On le prépare en faisant dissoudre à froid :

Bleu coton (Bleu C4B Poirier...	0 gr. 15
Acide lactique pur.....	100 gr.
Filtrer.	

Une gouttelette placée sur une lame, dans laquelle est immergée la prise d'examen, chauffée jusqu'à production de légères vapeurs, colore le contenu cellulaire en bleu foncé et parfois la membrane en teinte plus claire.

Le colorant triple de GUÉGUEN [24] s'obtient comme il suit : 0. gr. 10 de Sudan III broyés finement au mortier, sont délayés dans : acide lactique, 100 gr.; le mélange est introduit dans un ballon jusqu'à obtention, au moyen d'une douce chaleur, d'un liquide limpide de couleur rouge cerise; on laisse refroidir et reposer 24 heures, on filtre. Cette solution constitue le Sudan simple; en l'additionnant de $\frac{1}{1000}$ de bleu lactique dissous par trituration à froid, ajoutant ensuite 2 ou trois gouttes de teinture d'iode pour 10^{cc} de liqueur, on obtient un liquide violet foncé qui colore :

- 1° les matières grasses en orangé vif — par le Sudan.
- 2° le protoplasme en bleu — par le bleu lactique.
- 3° l'amidon en violet — par l'iode.
- 4° le glycogène en brun-acajou — par l'iode.

Les autres colorants : Rouge Congo, Violet de gentiane, etc., ont été préparés lors des besoins, en partant des triturations sucrées que GUÉGUEN [25] a conseillées comme préférables aux solutions préparées d'avance, conséquemment plus ou moins vieilles.

Mensurations.

Souvent, toujours même pourrait-on dire, un dessin est plus démonstratif qu'une longue description, l'examen en est aussi plus rapide : nous donnerons quelques figures des formes principales rencontrées dans les cultures. Elles sont dessinées à la chambre claire de MALASSEZ et au grossissement indiqué. Les spores, columelles, filaments, sont mesurés à l'aide du micromètre, le μ étant pris comme unité.

Pour chaque planche, l'échelle métrique dessinée au grossissement choisi pour les dessins permet la mesure exacte des différents organes.

§ 2 Technique pour l'étude biologique.

Connaissant la morphologie générale de notre *Mucor*, nous considérerons ensuite l'action produite sur le développement de cet organisme par les agents physiques (température, lumière), ou chimiques (acides, alcalis, antiseptiques) et réciproquement les changements apportés par la culture de la plante dans la composition des milieux où elle végète (milieux sucrés ou milieux azotés, hydro-carbonés, etc.).

Influence de la température. — Toute moisissure vit dans des limites de température variables, mais il est un degré de l'échelle thermométrique qui concorde avec sa

croissance maxima. Ce degré constitue l'optimum de température pour l'espèce considérée.

On distingue l'optimum de croissance de l'optimum de germination.

L'optimum de croissance est indiqué par le poids maxima de la récolte obtenue au bout d'un même nombre de jours sur milieu liquide, à volume égal de milieu nutritif introduit dans des matras identiques. A l'aide de la même boucle de platine, obtenue en enroulant l'extrémité d'un fil de platine, on puise l'ensemencement dans une émulsion de spores qui sera suffisante pour toutes les prises de semis. Ce dernier sera déposé à la surface de 20^{cc} de liquide de Raulin normal contenu dans des matras de 60^{cc}, lesquels seront portés dans des étuves réglées à des températures croissantes, de 2 en 2 degrés, par exemple : 16°, 18°, 20°, 22°, 24°, . . . 30°.

Huit jours après, le contenu de chacun des ballons, représenté par la végétation de l'organisme, est jeté sur un filtre taré après qu'on a arrêté tout développement ultérieur en tuant la culture par la chaleur. Après plusieurs lavages, afin d'éliminer toutes traces de sels minéraux qui auraient pu rester adhérents, le filtre et son contenu sont séchés à l'étuve jusqu'à poids invariable ; on les pèse alors avec beaucoup de précision.

La différence entre le poids total et celui du filtre donne le poids de la culture.

L'optimum de germination est la température où l'allongement des filaments mycéliens issus de la spore est le plus considérable au bout d'un temps donné. Nous avons employé des cultures cellulaires permettant, dans les premiers jours, de mesurer et comparer la longueur des filaments émis par les spores semées ; mais cet examen n'est possible que pendant un temps relativement court et une température assez basse ; il est susceptible cependant de donner des indications que le poids des cultures viendra contrôler et que

l'envahissement plus ou moins rapide du substratum confirmera à son tour.

Influence de la lumière.

On peut examiner comment se comporte l'organisme lorsqu'il est ou non privé de lumière, qu'on remplace la lumière du jour par une lumière artificielle, celle d'une lampe à pétrole, par exemple.

La première expérimentation qu'on peut qualifier d'influence de l'éclairement, se résumera à prendre 2 lots de tubes contenant le support de choix de la Mucorinée, la carotte en l'espèce, l'un deux laissé en pleine lumière, l'autre, privé de lumière par enroulement de papier noir opaque, en plusieurs doubles, autour de chaque tube dans la totalité de sa longueur.

La seconde expérience se réalise en enfermant l'étuve dans une armoire close, dans laquelle brûle constamment une lampe à pétrole maintenue à la même puissance d'éclairage, et placée de telle sorte qu'elle n'envoie pas de radiations directes sur les tablettes de l'étuve.

Influence des acides, alcalis, sels.

Nous avons étudié l'action d'oxacides, hydracides, acides organiques. Ces substances, qualifiées comme profitables, à des doses assez sensibles, pour certains champignons inférieurs, sont au contraire très nocives pour d'autres espèces, mêmes voisines des premières.

Comme oxacides minéraux, nous nous sommes adressé aux acides sulfurique et azotique, l'acide chlorhydrique représentant les hydracides; comme alcalis, ce sont la potasse et la soude auxquelles nous avons fait appel. Afin de mesurer aisément les doses croissantes de ces 5 subs-

tances, nous avons fait de chacune des solutions normales, solutions titrées rigoureusement et qui présentent l'avantage de ne pas varier dans leur teneur une fois dosées.

Alors nous avons calculé la quantité d'acide ou d'alcali contenue dans une goutte de solution normale de chacun de ces produits, goutte donnée par le compte-goutte calibré de LIMOUSIN.

1 goutte de la sol. normale d'acide chlorhydrique	
contient....	0,001825 d'HCl.
1 goutte de la sol. norm. d'acide azotique	
contient....	0,00315 de A^2O^3H
1 goutte de la sol. norm. d'acide sulfurique	
contient....	0,00245 de SO^4H^2
1 goutte de la sol. norm. de potasse	
contient....	0,0028 de KOH
1 goutte de la sol. norm. de soude	
contient....	0,002 de NaOH

Chacune de ces solutions est ajoutée dans 20^{cc} Raulin neutre glucosé contenu dans un matras de 60^{cc} à raison d'une progression de 2 gouttes sur la dose du premier matras. Le n° 1 recevant 2 gouttes de solution normale, le n° 2 en sera additionné de 4, le n° 3 de 6, le n° 4 de 8, et ainsi de suite.

L'ensemencement est opéré ensuite et la série entière mise à l'étuve, réglée à la température de l'optimum cultural.

Les résultats obtenus ne sont pas absolus, parce que l'introduction d'un acide peut donner lieu à des phénomènes chimiques modifiant la composition du milieu ; dans le cas de l'acide sulfurique, par exemple, l'acide azotique de l'azotate de potasse se trouvera mis en liberté lorsque tout le carbonate de magnésie se sera transformé en sulfate de magnésie, par suite de la présence dans le liquide

d'acide sulfurique libre. Le fait est surtout important pour ce seul acide, mais la petite quantité d'acide qui s'oppose à la végétation de notre mucor dans les divers cas nous autorise à ne pas exagérer cette cause d'erreur.

Dans toutes les expériences, tant sur les acides, alcalis, qu'antiseptiques, nous appellerons tube-limite celui dans lequel, après quinze jours d'ensemencement, il n'y a pas eu de culture apparente.

Comme acide organique, nous avons choisi l'acide acétique ; comme antiseptiques, l'acide borique, le sulfate de cuivre. Ces trois substances ont été introduites dans le milieu nutritif en quantités variables, répondant à des concentrations différentes.

Chaque série d'expériences comportait un flacon témoin, contenant la même quantité de liquide nutritif, ne recevant pas de substance nocive, mais placé dans les mêmes conditions physiques que ceux qui en contenaient. La stérilisation de tous ces milieux a été faite au moyen de l'autoclave à 115°, pendant 10 minutes.

Action sur les composés sucrés et azotés.

Tous les aliments ne sont pas directement assimilables par les êtres vivants ; sous l'influence de substances actives sécrétées par l'organisme, nommées enzymes, les matériaux nutritifs subissent une transformation moléculaire qui les rend susceptibles d'entretenir la vie. Ce phénomène est réalisé aussi bien chez les végétaux inférieurs que chez les êtres occupant les plus hauts degrés de l'échelle animale. La sucrase et l'amylase ont été décelée par DUCLAUX [18] dans l'*Aspergillus niger*, chez lequel BOURQUELOT [15] démontrait, en outre, la sécrétion de tréhalase, d'émulsine, d'inulase et de trypsine.

Nous rechercherons, pour notre organisme, un certain nombre d'enzymes présentant un intérêt biologique ou

industriel ; parmi les ferments protéolytiques : la trypsine, la présure et la caséase ; parmi les ferments des hydrates de carbone : la sucrase, la maltase, la lactase, l'amylase et la zymase alcoolique.

Trypsine. — Ce ferment transforme l'albumine en albumose et en peptone. Pour en rechercher la sécrétion par un organisme microscopique comme le nôtre, on prépare un milieu albuminoïde, dit milieu réactif, en prenant parties égales d'albumine d'œuf de poule frais et d'eau distillée ; on agite vivement, on le débarrasse des membranes en le jetant sur un carré de tarlatane, on répartit ensuite dans des tubes inclinés et la stérilisation s'effectue par la méthode de tyndallisation à 100°. Les tubes sont examinés 1 mois après leur ensemencement, leur mise à l'étuve ayant été faite aussitôt après. S'il y a présence de trypsine, le blanc d'œuf est devenu laiteux transparent, sa liquéfaction se produit peu à peu et la liqueur filtrée donne la réaction du biuret, caractérisant la peptonification. Cette réaction se fait en additionnant 10^{cc} de liqueur de 4^{cc} de lessive de soude et de quelques gouttes de solution de sulfate de cuivre à 1 0/0 ; lorsqu'elle est positive, il se produit une belle coloration violette.

Présure et caséase. — La préparation du lait devant servir à déceler l'existence de ces enzymes se réduit, après écrémage, à une simple stérilisation à 110°. Après 15 jours de culture, le milieu a subi : soit une coagulation, soit une peptonification.

La coagulation peut être due à l'acide lactique provenant de la transformation du lactose, ou à la présure si on a eu soin d'ajouter au lait $\frac{1}{10}$ de carbonate de chaux, pur et précipité, destiné à saturer l'acide lactique au fur et à mesure de sa production.

Si l'on se trouve en présence de caséase, ce ferment, qui

peptonifie la caséine en la solubilisant, transforme le lait en un liquide visqueux jaunâtre et opalescent ; il peut masquer la présence de la présure si son abondance est plus considérable que cette dernière. Dans le cas contraire, la présure agit d'abord pour coaguler le lait, la caséase intervenant ensuite fait disparaître les flocons de caséine pour donner naissance à un liquide jaunâtre, un peu visqueux et opalescent.

GRIMBERT [22] a démontré la possibilité pour cet enzyme, la caséase, de peptonifier le lait sans coagulation préalable par la présure,

Sucrase.— Elle produit l'intervention du saccharose. Le lévulose formé est lévogyre et son pouvoir rotatoire est, en valeur absolue, beaucoup plus élevé que celui du glucose. Tous deux réduisent la liqueur de Fehling ; les propriétés réductrices de la solution indiquent nettement la réaction, de même que son action sur la lumière polarisée, car elle devient lévogyre de dextrogyre qu'elle était lors qu'elle contenait le saccharose en dissolution $\alpha_D = +66^\circ 5$.

Maltase. — Dédoublé le maltose en 2 molécules de glucose ; le pouvoir réducteur de la liqueur est notablement augmenté, puisque le pouvoir réducteur du maltose vis-à-vis de la liqueur de Fehling est d'environ les $\frac{2}{3}$ de celui du glucose. Quant aux propriétés optiques de la liqueur, la rotation à droite est diminuée, le pouvoir rotatoire du maltose étant de $+138^\circ 38$, supérieur à la somme des pouvoirs de même sens des 2 molécules de glucose : $2 \times +52^\circ 74$.

Lactase. — Cet enzyme hydrolyse le lactose en donnant glucose et galactose. Ces trois sucres sont dextrogyres ; le pouvoir rotatoire du galactose étant plus élevé que celui du lactose, la rotation à droite sera légèrement supérieure.

Mais pour plus de certitude, nous avons employé la phenylhydrazine — qui peut aussi être utile dans les cas précédents — ; à chaud, cette substance se combine au glucose pour donner du glucosazone, soluble dans l'alcool méthylique et l'acétone diluée au demi.

Amidon. — Lorsqu'il y a sécrétion d'amylase, la gelée d'amidon se désagrège peu à peu, de consistance demi-solide elle devient un liquide clair ou opalescent prenant sous l'influence de l'eau iodée une teinte successivement violacée, puis rouge (érythro-dextrines), puis jaune ; quand l'eau iodée ne donne plus de coloration, l'amidon se trouve remplacé par un mélange de dextrines (achroo-dextrines) et de maltose.

Zymase alcoolique. — Pour l'étude de cet enzyme, nous employons, comme pour les autres ci-dessus, du Raulin neutre, non sucré, additionné de 5 p. 100 de l'hydrate de carbone choisi. La stérilisation a toujours été faite par tyndallisation à 80° pour éviter l'altération de certains d'entre eux. Après ensemencement, nous avons laissé à l'étuve à + 22° pendant 15 jours avant de procéder à l'examen de ce qui s'est produit sous l'influence de notre mucor.

S'il y a sécrétion de zymase alcoolique, le Raulin glucosé contient de l'alcool. Nous mettons sa présence en évidence en distillant le contenu du matras ; recueillant 10^{cc} de la liqueur distillée, nous faisons 2 parts : à l'une, on ajoute 1 goutte de solution de bichromate de potasse au $\frac{1}{10}$, puis 5 gouttes d'acide sulfurique et on chauffe : la coloration passe du jaune au vert ; à l'autre portion, on mélange 1^{cc} de solution d'iodure de potassium au $\frac{1}{10}$ et 10 gouttes de lessive de soude, puis, goutte à goutte, de l'hypochlorite de soude, il se forme de l'iodoforme, reconnaissable aisément.

DEUXIÈME PARTIE.

Etude morphologique et biologique du *Mucor nigrans* nov. sp.

CHAPITRE PREMIER.

Morphologie générale et conditions de vie.

§ 1. Habitat du *Mucor nigrans*.

*Isolement en cultures pures. — Aspect du champignon
sur divers milieux naturels.*

Le *Mucor nigrans* se rencontre sur des fruits sucrés, figues, pêches, moisissant à l'air. Il se développe assez souvent seul sur la betterave cuite qu'on laisse moisir dans une assiette recouverte d'une cloche ; d'autres fois il s'y trouve accompagné de divers petits mucors, le *Mucor spinosus* entre autres. Nous l'avons aussi trouvé sur la mousse récoltée dans les bois, sur les aiguilles de pin en décomposition.

Ce champignon, dont la partie aérienne stérile atteint 2 à 3 centimètres de saillie et parfois davantage, forme au-dessus de ce mycélium enchevêtré, des touffes de filaments dressés, rigides, très blancs qui sont terminés par un sporange très noir lorsqu'il est mûr. Ces filaments sporangiaux qui peuvent atteindre 6 centimètres et plus sont fréquemment ramifiés affectant, dans la plupart des cas, la disposition en cyme unipare. L'ensemble de la colonie présente, du fait de la couleur noire des très nombreux sporanges répartis un peu partout, une teinte grisoncée, presque noire, surtout à la partie supérieure.

Pour isoler la *Mucorinée* nous avons choisi, parmi sa végétation, un sporange de couleur noire, d'accès facile ; puis au moyen d'un fil de platine, très fin, préalablement rougi dans la flamme d'un bec Bunsen, nous avons touché ce sporange lequel adhérant au fil est immédiatement porté sur carotte ; au bout de quelques jours, le développement d'une culture vigoureuse, d'aspect uniforme, ayant les caractéristiques de la végétation naturelle, nous donnait l'assurance que l'organisme était bien isolé et que nous l'avions obtenu en culture pure, point de départ de nos recherches et études ultérieures.

Lorsque le *Mucor nigrans* végète sur carotte ou betterave, milieux sur lesquels sa luxuriance végétative atteint son maximum, ses sporophores sont peu ou pas ramifiés ; quelquefois seulement vers la partie inférieure du filament une ramification à angle très aigu, terminée par un sporange, se produit.

Il pousse sur farine de lin avec une luxuriance notable ; il donne dans les cultures en grand sur ce milieu nutritif une intéressante variété de coloration des sporanges ; à la température du laboratoire, sous l'influence du froid de l'hiver, on trouve dans la même culture des sporanges de couleur blanche, bleu pâle ou bleu foncé, violet tendre, rose, rouge rougeâtre, brun rosé,

brun clair, gris, gris rougeâtre ou noir plus ou moins foncé. Nous avons constaté le renouvellement de ce phénomène au cours des trois derniers hivers.

Lorsqu'on ensemente la *Mucorinée* à la surface de milieux liquides, l'aspect de la colonie ne diffère pas sensiblement de celui qu'elle présente sur milieux solides ; cependant les sporanges sont beaucoup moins volumineux, leur couleur est plus bistrée que noire, leur nombre considérablement augmenté ; souvent on en trouve de sessiles sur le parcours du filament principal.

§ 2. Etude morphologique.

Cultures en cellule. — Développement et morphologie générale. — Appareil reproducteur. — Comparaison avec les espèces affines.

Pour suivre le développement initial du *Mucor nigrans*, nous avons préparé une émulsion de ses spores en laissant tomber quelques sporanges murs, provenant d'une culture pure de l'organisme, dans trois ou quatre centimètres cubes d'eau distillée stérile. Au contact de l'eau, la membrane des sporanges se délite, les spores sont mises en liberté et une agitation prolongée les répartit uniformément dans la masse du liquide. Alors on y plonge un fil de platine flambé et on ensemente successivement plusieurs gouttelettes nutritives (Raulin normal). Cette façon d'opérer, qui n'est qu'une méthode complémentaire d'isolement, avait pour avantage de diminuer de plus en plus le nombre des spores semées, puisque la même charge devait ensemer toutes les cellules ; conséquemment le second semis était moins riche que le premier, le troisième plus pauvre que le second et nous arrivions vers le cinquième ou sixième semis à n'avoir déposé qu'une seule spore dans la goutte nutritive. Ayant préparé six

cultures cellulaires nous les avons introduites sous une cloche humide, laquelle fut mise à l'étuve à $+ 22^{\circ}$. Le développement des spores ne tarde pas à se manifester en semblables conditions. Six heures après l'ensemencement, la spore accuse un gonflement sensible ; au bout de dix heures elle s'éclaircit, le protoplasme granuleux se distingue aisément ainsi que trois ou quatre guttules réfringentes qui y sont disséminées. La germination de la spore se manifeste par une hernie sur sa paroi ayant nettement la forme d'un filament, terminé en doigt de gant, dix-huit heures après l'ensemencement. Les granulations protoplasmiques sont plus considérables dans cette partie de la spore, le filament lui même en contient un grand nombre, il continue de s'accroître et quarante deux heures après le semis on y remarque un début de ramification nettement caractérisée à la fin du deuxième jour. Le protoplasme afflue dans le filament émis, il est encore plus dense, plus granuleux à l'endroit où s'insère le rameau secondaire ; en revanche la spore se vide de plus en plus à mesure qu'augmente le filament. Le troisième jour de nouveaux filaments, issus de la spore selon un mode semblable, sont nettement formés ; un liquide hyalin garnit la spore, il a succédé au protoplasme. Ce dernier se déplace toujours pour affluer vers les parties jeunes, celles qui s'accroissent ; il est remplacé par le liquide hyalin constaté d'abord dans la spore. La différence de réfringence de ces deux substances constitue entre elles une ligne de séparation qu'on serait mal fondé à prendre pour une cloison. Le thalle s'accroît, se ramifie mais ne forme aucune cloison ; le cinquième jour les filaments sont enchevêtrés ; cependant parmi eux on distingue un filament plus important par ses dimensions vers lequel le protoplasme émigre abondamment. Le septième jour l'extrémité renflée de ce filament, gorgée de protoplasme granuleux, donne la certitude que l'on a affaire à un

sporophore. Il ne tarde pas d'ailleurs à se renfler en sphère séparée par une cloison du sporangiophore. La dite cloison se voûte bientôt à l'intérieur de la sphère, c'est le début d'un sporange, lequel évolue rapidement. En 24 heures il possède une couleur noire, indice de sa maturité, son intérieur est rempli de spores globuleuses ; sa columelle, constituée par le renflement de l'extrémité de l'hyphe sporangiale, offre un aspect piriforme, son plus grand diamètre étant situé à la partie la plus interne du sporange ; elle occupe le tiers environ du volume du sporange, sa couleur est grise, uniforme dans toute son étendue, ou bien jaunâtre vers son sommet seulement ; à sa base s'insère la membrane du sporange. Cette membrane n'est pas lisse ; de très fines aiguilles d'oxalate de chaux, solubles dans un acide faible, y sont implantées et la hérissent, sur tout son pourtour, de très nombreuses pointes infiniment petites. Lorsque la dispersion des spores se produit, par diffluence de la membrane du sporange, une partie de cette membrane reste adhérente à son point d'insertion, formant ainsi une collerette à la base de la columelle. Les spores, peu différentes entre elles comme dimensions, sont généralement sphériques mais entremêlées de spores ovales ; leur couleur jaune très pâle, lorsqu'elles sont examinées séparément, devient fuligineuse, lorsqu'elles sont entassées. Elles ont comme dimensions moyennes 6 à 7 μ de diamètre, $6,7 \times 10,8 \mu$ pour les spores ovales.

Quant aux dimensions des sporanges murs, elles peuvent varier entre 45 μ et 120 μ , les plus gros sporanges occupant le sommet du sporangiophore, les plus petits le sommet des ramifications secondaires. La columelle, dans sa plus grande largeur, varie entre 15 et 40 μ . Enfin, les sporangiophores présentent des diamètres assez variables de 15 à 16 μ environ (Pl. I).

La ramification des hyphes sporangifères est constante,

PLANCHE I.

Mucor nigrans.

Morphologie générale.

EXPLICATION DES FIGURES.

Fig. 1. — En haut, à gauche, germination des spores après gonflement ; à droite, un gros sporange mûr, non déhiscent.

En bas, de gauche à droite, 1° une cyme de sporanges murs ou déhiscent, l'avant dernier sporange avorté ; 2° une cyme avec sporanges subsessiles ; 3° une cyme réduite à deux sporanges.

Fig. 2. — Deux gros sporanges après déhiscence montrant la forme de la columelle et la collerette adhérente. Groupe de spores ovales.

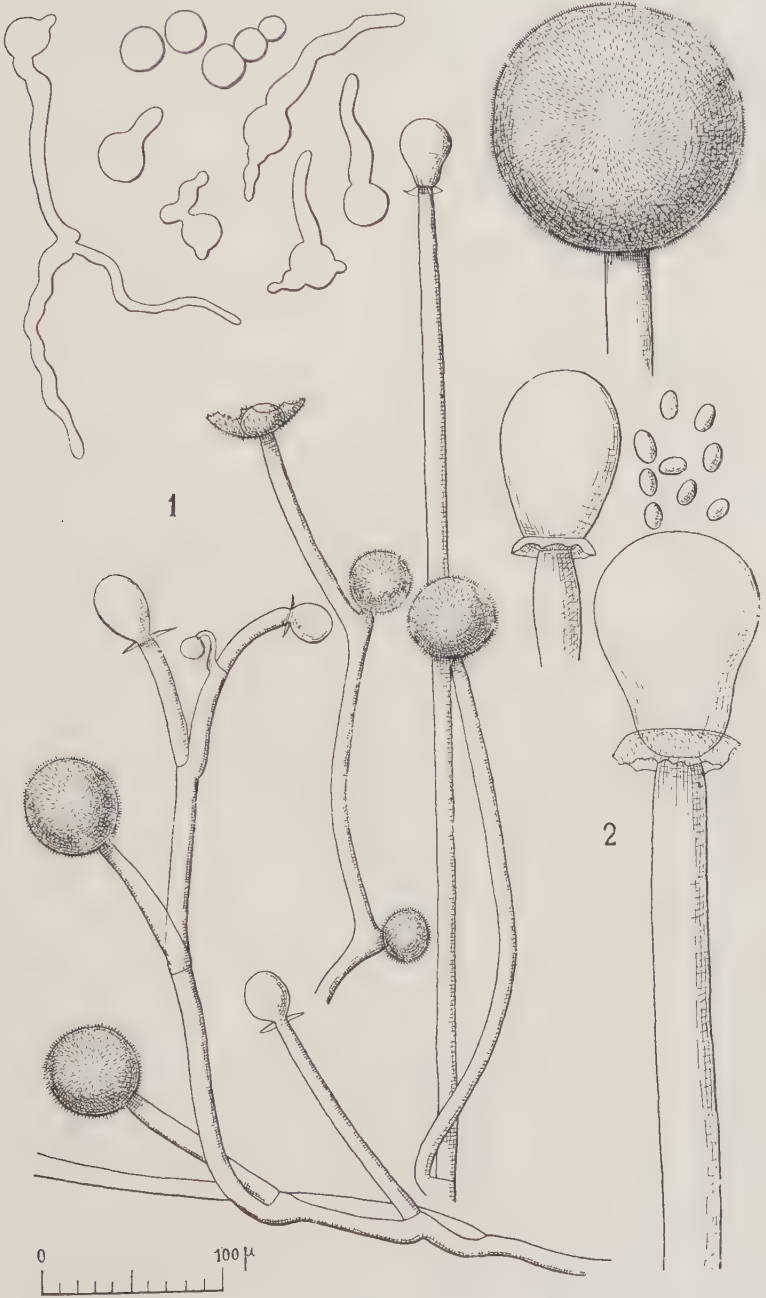


PLANCHE I.

Mucor nigrans n. sp.

plus ou moins prononcée selon les milieux nutritifs. Dans les cultures présentant le maximum de végétation, le sporophore principal donne naissance vers sa partie inférieure à une ramification secondaire, plus ou moins allongée, terminée par un sporange ; le sporangiophore secondaire fait avec le principal un angle très aigu, il suit une direction semblable. Sur les milieux nutritifs convenant moins bien au *Mucor nigrans*, ou sur les substratums liquides, la ramification de l'organisme est beaucoup plus importante.

Généralement, aucun des sporophores secondaires ne dépasse celui qui les a précédés ; de longueurs différentes ils alternent plus ou moins régulièrement. Fréquemment rectilignes, ces ramifications sont quelquefois circinées ; les sporanges secondaires sont souvent petits, ils ont une couleur bistrée, leur columelle affecte des formes variables, tantôt imitant un bonnet ou bien une mitre, tantôt ressemblant à une large goutte d'eau posée sur une surface qu'elle ne peut mouiller. La couleur de ces petites columelles ressemble à celles de la terre d'ombre naturelle ; à la déhiscence du sporange, elles conservent aussi une petite collerette, constituée par une partie de la membrane de ce dernier.

Lorsque le *Mucor nigrans* végète depuis quelque temps sur des supports dont il s'accommode bien, il y produit un mycélium aérien abondant formé de longs filaments soyeux enchevêtrés, non cloisonnés, qui constituent un épais feutrage que l'on peut arracher par lambeaux. Il ne forme pas de chlamydospores en cultures aérées ; nous n'avons pu également provoquer la formation de zygosporos. Ces particularités le distingueraient déjà suffisamment d'espèces de *Mucors* ramifiés déjà décrites ; il y a lieu, en outre, de tenir le plus grand compte des dimensions respectives des spores de chacune d'elles.

Ainsi, le *Mucor heterogamus* (VUILLEMIN), LENDNER [33]

qui possède des sporanges sphériques noirâtres à leur maturité, laissant une collerette à la base de leur columelle sphérique ; ses spores sont rondes, moitié moins volumineuses que celles de *Mucor nigrans*. Ses très courts sporangiophores sont ramifiés deux ou quatre fois ; ils forment des zygosporos tout aussi bien que les filaments mycéliens. On rencontre les chlamydospores dans le trajet des hyphes mycéliennes ou bien à leur extrémité ; elles sont elliptiques ou arrondies.

Le *Mucor de Baryanus*, SCHOSTAKOWITSCH [48] forme, au moyen de ses sporophores, un gazon gris noirâtre, mais à l'encontre de ceux du *Mucor nigrans* qui restent généralement dressés, ils s'incurvent sur le substratum. Les sporanges sont noirs pour l'un et l'autre de ces *Mucors*, mais la columelle du *Mucor de Baryanus* est circonscrite d'une couronne de proéminences qui se développeront en filaments mycéliens. Les spores rondes mesurent de 5 à 10 μ de diamètre ; enfin, ce *Mucor* forme de très nombreuses chlamydospores. On ne lui connaît pas encore de zygosporos.

Quant au *Mucor pusillus* LINDT [35], dont les sporophores se ramifient à plusieurs reprises, ramifications secondaires et tertiaires terminées par un sporange plus petit que celui du sporangiophore principal, leur infime longueur par rapport à ce dernier s'opposerait à une identification. La dimension des spores vient ensuite en accuser la différence ; elles sont, en effet, moitié moins volumineuses que celles de notre moisissure.

Le *Mucor fragilis*, BAINIER [5], possède des sporangiophores ramifiés et terminés par de petits sporanges sphériques de couleur noire à maturité ; leur membrane est diffluyente, laissant une collerette à la base de la columelle qui est sphérique et non piriforme comme celle du *Mucor nigrans*. Les spores sont ovales, 4,2 μ de long sur 21, μ de large ; leur couleur est bleu-grisâtre. Ce *Mucor*

forme des zygospores et ses chlamydospores ne sont pas connues.

Le *Mucor fragilis* ayant été trouvé sur farine de lin, qui est un excellent milieu pour le *Mucor nigrans*, il nous a semblé nécessaire de ne pas omettre de démontrer que leurs liens de parenté étaient insuffisants pour les considérer comme appartenant à la même espèce.

Telles sont les différences qui permettent de distinguer facilement le *Mucor nigrans*, *nov. sp.* des espèces affines, déjà décrites, qui ont comme caractère commun de présenter un sporange noir à la maturité.

§ 3. Conditions extérieures de vie.

A. — ACTION DES AGENTS PHYSIQUES.

I. — Influence de la température.

L'optimum de croissance a été recherché en cultivant la *Mucorinée* sur carotte, son milieu d'élection. Un certain nombre de tubes de carotte sont ensemencés et répartis dans des étuves réglées à $+ 10^{\circ}$, $+ 16^{\circ}$, $+ 20^{\circ}$, $+ 22^{\circ}$, $+ 24^{\circ}$, $+ 28^{\circ}$, $+ 33^{\circ}$, $+ 38^{\circ}$, $+ 40^{\circ}$, $+ 42^{\circ}$.

Voici le résumé de nos constatations : à la température de $+ 10^{\circ}$ on n'observe qu'un très maigre duvet au bout de cinq jours, la végétation n'augmente que très lentement d'un jour à l'autre, à $+ 16^{\circ}$, le semis est entouré d'un gazon court blanc duveteux, déjà remarquable au bout du premier jour, la culture progresse sensiblement et pousse ses premiers sporanges le sixième jour. A $+ 20^{\circ}$, un tapis blanc, serré, abondant, émet ses hyphes sporangifères dès le troisième ; le cinquième jour, quelques sporanges terminaux sont mûrs ; à $+ 22^{\circ}$, la vigueur de la culture se manifeste au bout d'un jour, les hyphes spo-

rangifères développent leurs speranges dès le second jour. Ces appareils fructifères sont mûrs le troisième, donnant à la colonie une couleur grisâtre provenant de la couleur très noire des sporanges développés sur des sporophores très blancs.

A $+ 24^{\circ}$, la végétation est moins active ; à $+ 28^{\circ}$, l'organisme moins vigoureux ne présente que de rares filaments émergeant le 3^e jour du duvet blanc, clairsemé, apparu la veille autour du semis.

A $+ 38^{\circ}$, $+ 40^{\circ}$, $+ 42^{\circ}$, il n'y a aucun développement, même au bout de plusieurs semaines ; ces tubes replacés à $+ 22^{\circ}$ restent stériles. L'optimum est donc voisin de $+ 22^{\circ}$.

Au cours de cette étude, nous avons mesuré les spores du *Mucor nigrans*, afin de nous rendre compte de l'influence des diverses températures sur leurs dimensions. Nos expériences se sont étendues à d'autres milieux solides et liquides. Nous concluerons des nombreuses mensurations opérées dans les multiples conditions obtenues que les spores de ce *Mucor* varient peu suivant les milieux et sous l'influence des diversités de température.

Le tableau suivant résume nos résultats.

MILIEUX de culture	TEMPÉRATURE	DATE des mensurations	DIMENSIONS DES SPORES	
			Rondes	Ovales
Carotte	+ 10°	10 ^e jour	6 à 7 μ	6 $\times$ 8 μ
	+ 16°	8 ^e —	6 à 7 μ	—
	+ 22°	3 ^e et 4 ^e —	6 à 7 μ	7 $\times$ 10 μ
	+ 28°	5 ^e —	6 à 7 μ	—
	+ 33°	7 ^e —	6 à 7 μ	—
Pomme de terre	+ 10°	14 ^e jour	6 à 7 μ	6 $\times$ 8 μ , 7 $\times$ 10
	+ 16°	8 ^e —	6 à 7 μ	—
	+ 22°	4 ^e —	6 à 7 μ	—
	+ 28°	5 ^e —	6 à 7 μ	—
	+ 33°	8 ^e —	6 à 7 μ	—
Raulin normal gélatiné	+ 10°	12 ^e jour	6 à 7 μ	6 $\times$ 8 μ
	+ 16°	7 ^e —	6 à 7 μ	—
	+ 22°	4 ^e —	6 à 7 μ	6 $\times$ 8 μ , 7,5 $\times$ 11
	+ 28°	6 ^e —	6 à 7 μ	—
	+ 33°	8 ^e —	6 à 7 μ	7 $\times$ 10 μ
Raulin normal gélósé	+ 10°	14 ^e jour	6 à 7 μ	6,8 $\times$ 10 μ
	+ 16°	9 ^e —	6 à 7 μ	—
	+ 22°	5 ^e —	6 à 7 μ	6 $\times$ 8 μ
	+ 28°	5 ^e —	6 à 7 μ	7 $\times$ 10 μ
	+ 33°	9 ^e —	6 à 7 μ	—
Bouillon peptone glycériné		Sur voile formé		
	+ 10°	Après 12 jours	6 à 7 μ	7 $\times$ 10 μ
	+ 16°	9 —	6 à 7 μ	—
	+ 22°	4 —	6 à 7 μ	6,8 $\times$ 10 μ
	+ 28°	5 —	6 à 7 μ	7,5 $\times$ 11 μ
	+ 33°	8 —	6 à 7 μ	—
Raulin neutre		Sur voile formé		
	+ 10°	Après 10 jours	6 à 7 μ	6,8 $\times$ 10, 11 μ
	+ 16°	10 —	6 à 7 μ	—
	+ 22°	3 —	6 à 7 μ	7 $\times$ 10 μ
	+ 28°	5 —	6 à 7 μ	6 $\times$ 8 μ
	+ 33°	7 —	6 à 7 μ	—

De l'ensemble de ces dimensions, on constate que les variations des spores d'un milieu à l'autre sont peu marquées et que les spores rondes ont des mesures constantes à des températures très diverses.

II. — Influence de la lumière.

1. Lumière solaire diffuse.

Nous avons employé comme support la carotte ; dans un cas les tubes étaient entièrement entourés de papier noir opaque maintenu par des bracelets en caoutchouc, mis à l'étude à $+ 22^{\circ}$ ainsi qu'un témoin. Un autre lot de tubes de carottes préparé de la même façon a été laissé à la température du laboratoire. Enfin une 3^e série ne comportait qu'une bande de papier noir enroulée sur la partie du tube occupée par le substratum, laissant les parties supérieure et inférieure exposées à une lumière diffuse. Afin de pouvoir observer les phénomènes de la végétation, un volet était ménagé dans le papier lorsque celui-ci était collé sur le tube ; pour ceux ne comportant qu'un simple enroulement, les chemises étaient enlevées le temps strictement nécessaire à l'examen journalier.

Des multiples résultats enregistrés nous pouvons conclure que l'obscurité favorise d'abord la végétation du thalle. Ainsi à $+ 22^{\circ}$ la culture est plus luxuriante dans le tube obscur les 2, 3 et 4^e jour, que dans le témoin ; mais la maturation des sporanges est plus précoce dans le témoin que dans le tube privé de lumière. Dans ce dernier les sporanges sont petits, les hyphes qui les portent très courtes. L'épaisseur du gazon et son accroissement reprennent l'avantage dans le témoin à partir du 5^e jour, les sporangiophores sont beaucoup plus longs, ils atteignent 2 centimètres le 10^e jour alors qu'ils ne mesurent que $3 \frac{1}{2}$ à 4 millimètres dans le tube obscur à pareille date. L'ac-

tion favorable de l'obscurité sur la végétation du *Mucor nigrans* est encore plus caractéristique à la température ordinaire. Notre expérimentation faite à une époque où le thermomètre du laboratoire oscillait entre $+ 10^{\circ}$ et $+ 12^{\circ}$ nous a donné les résultats suivants. Nous avons commencé en témoin, en tubes obscurs, en tubes demi-obscurs, si on peut qualifier ainsi ceux ne comportant l'enroulement du papier noir que sur la partie occupée par le substratum. Trois jours après l'ensemencement aucune végétation ne s'est manifestée dans le tube témoin, un infiniment petit duvet blanc estompe le semis dans le tube demi-obscur et dans le tube totalement privé de lumière l'organisme est nettement apparent. Le 6^e jour, le témoin présente une colonie duveteuse, blanche, de 2 centimètres carrés, le tube 1/2 obscur offre, au-dessus d'un gazon blanc très dense, de courts sporophores qui le dépassent à peine et dont l'extrémité porte de très petits sporanges mûrs ; leur nombre est plus considérable encore dans le tube complètement privé de lumière. Ces différences sont aussi accusées le 9^e jour ; à ce moment on trouve dans le témoin de gros sporanges, globuleux, portées par de vigoureuses hyphes ; leur couleur noire indique qu'ils sont à maturité. Le volume de ces sporanges est deux fois plus considérable que ceux que l'on rencontre dans la végétation complètement privée de lumière, mais dans ce dernier cas leur nombre est considérablement plus grand. La privation de lumière exciterait donc la formation d'appareils fructifères ; GUÉGUEN [26] a observé le même fait pour le *Mucor sphaerosporus* (Hagem).

2. Lumière artificielle.

Nous avons utilisé la lumière donnée par une lampe à pétrole et pratiqué l'expérience en plaçant l'étuve dans une armoire parfaitement close. La lampe à pétrole — bec

12 lignes — était placée de façon à éviter toute radiation directe sur les tablettes de l'étuve où reposaient les tubes de carottes ensemencés.

Il faut attendre trois jours pour constater un léger duvet blanc, terne, de 1 millimètre carré de surface, signe manifeste de végétation, alors que le tube témoin placé à la lumière diffuse du jour, dans l'étuve du laboratoire, à une température semblable manifestait son développement dès le 1^{er} jour. Les appareils reproducteurs, formés en trois jours sous l'influence de la lumière solaire, n'apparaissent que le 5^e jour lorsque l'organisme est soumis aux radiations de la lumière du pétrole, encore est-il que leur nombre n'est appréciable qu'au bout de 6 jours ; à ce moment la moitié à peine de la culture présente de très courts sporophores ; elle n'en sera couverte totalement qu'entre le 7 et 8^e jour, tandis que dans le tube témoin les hyphes sporangiales émergent de tous les points du mycélium au bout de 5 jours 1/2. Le retard est manifeste et se continuera ; un fait qui démontre l'action paralysante de cette lumière du pétrole c'est que la face du substratum qui lui est opposée, c'est-à-dire dans la pénombre, est recouverte d'une végétation plus vigoureuse, les sporangiophores sont plus nombreux, plus serrés ; les sporanges qu'ils portent ont une couleur noire alors que sur la face éclairée ils sont bruns.

3. Lumière solaire directe.

Nous avons cultivé la moisissure sur bois de réglisse, empruntant la méthode que M. BAINIER utilise pour la conservation des échantillons de la Mycothèque de l'Ecole supérieure de Pharmacie.

Notre expérimentation a porté sur deux tubes, l'un en verre, l'autre en quartz de 4 centimètres de diamètre et 10 centimètres de long que nous avons fait faire spéciale-

ment pour ces essais. L'ensemencement fait, après stérilisation et les tubes redevenus froids, nous les exposons à la lumière solaire directe de 9 heures du matin à 5 heures 1/2 du soir, en les déplaçant de façon à les maintenir constamment dans le faisceau de rayons solaires. De nos constatations il résulte que le quartz retarde la végétation. Ainsi au bout de 24 heures d'ensemencement la végétation est manifeste dans le tube en verre ordinaire, nulle dans le tube en quartz. Le second jour d'exposition au soleil n'amène pas de germination sur le substratum placé dans le manchon de quartz, alors que les progrès s'accroissent dans la culture contenue dans le tube en verre ordinaire. Ce n'est que le troisième jour et vers sa fin seulement qu'un tout petit point blanchâtre apparaît sur la réglette enfermée dans le tube de quartz, tandis que ce substratum dans le verre ordinaire a déjà permis la formation de sporanges.

L'action retardatrice de l'enveloppe de quartz sur la végétation de cet organisme est sans nul doute la résultante de la perméabilité de cette substance aux rayons ultra-violets du spectre solaire, rayons que le verre ordinaire intercepte presque entièrement. Ces résultats s'accordent avec ceux obtenus par L. RAYBAUD [44] expérimentant l'action des rayons ultra-violets, fournis par une lampe en quartz à vapeurs de mercure, sur diverses moisissures.

En résumé, le *Mucor nigrans* s'accommode bien de l'obscurité mais supporte mal les radiations de la lumière artificielle produite par la combustion du pétrole.

III. Influence des mouvements mécaniques.

L'influence de l'agitation sur le développement des organismes inférieurs a fait l'objet d'un certain nombre de recherches.

En 1892, H. RUSSELL [45], à la suite de nombreuses expériences sur la croissance en milieu agité de diverses espèces : *Monilia candida*, *Oïdium albicans*, *Saccharomyces*, etc., conclut à un développement relativement aisé en donnant beaucoup de cellules et peu d'hyphes.

J. RAY, en 1897 [43], y consacre un mémoire spécial et constate que le *Sterigmatocystis alba*, cultivé dans un liquide nutritif agité croît d'abord très vite, le thalle prenant ensuite la forme sphérique.

SARTORY [47], dans sa thèse de Doctorat, conclut :

1° que les champignons filamenteux appartenant à la famille des *Oomycètes* et à d'autres familles se développent bien dans les liquides en mouvement ;

2° que les modifications introduites par des secousses relativement espacées sont peu marquées ;

3° que l'accélération de l'agitation fait prendre au thalle des formes diverses : sphériques, le plus souvent parfois étoilées ou vermiculées.

Nous avons cherché ce que deviendrait le *Mucor nigrans* en semblables conditions.

Culture fixe en Raulin normal. — Expérimentant l'action de l'agitation sur le végétal immergé dans ce milieu, nous ne décrirons pas les caractères macroscopiques du semis en surface.

En culture immergée, nous constatons une végétation assez luxuriante, constituée par des filaments blancs floconneux, dès le 2^e jour. Au bout de 5 jours, ils sont très nombreux et présentent des monstruosité sous forme de renflements nombreux. Le 15^e jour ces flocons forment une masse assez volumineuse.

Culture en Raulin normal agité, 10 à 20 secousses par minute. — Dans ce cas, il se produit des transformations extrêmement légères du thalle. Il ne s'agglomère pas en

sphérules mais forme des amas cotonneux peu denses. L'examen microscopique ne révèle qu'un léger changement dans la structure, la formation toruleuse est un peu plus rapide qu'en liquide immobile.

Culture en Raulin normal agité, 60 à 70 secousses à la minute. — L'augmentation du renouvellement des contacts provoque des modifications profondes dans le thalle et dans la façon de se comporter du champignon. Nous donnons le résultat de nos différentes expériences sous forme de tableaux récapitulatifs, qui feront mieux ressortir les déformations subies sous la seule influence de l'agitation.

PREMIÈRE SÉRIE D'EXPÉRIENCES (15 à 20 secousses à la minute).

Jours	Température	Couleur du milieu	OBSERVATIONS macroscopiques et microscopiques
1 ^{er} au 2 ^e	18 à 20°	Incolore	Début de mycélium non cloisonné.
3 ^e au 4 ^e	Id.	Id.	Thalle plus abondant, structure identique.
5 ^e au 6 ^e	Id.	Id.	Peu de changement, culture plus abondante.
10 ^e au 15 ^e	Id.	Id.	Cloisonnement assez intense plus considérable que dans le témoin ; début de déformation du mycélium, léger épaissement de la membrane, apparition de globules de graisse assez nombreux.
25 ^e au 30 ^e	Id.	Id.	Formes toruleuses abondantes, monstruosités mucoriennes, augmentation sensible des globules de graisse.

DEUXIÈME SÉRIE D'EXPÉRIENCES (60 secousses à la minute).

Jours	Température	Couleur du milieu	OBSERVATIONS macroscopiques et microscopiques
1 ^{er} au 2 ^e	18 à 20°	Incolore	Peu de choses à signaler.
2 ^e au 3 ^e	Id.	Id.	Légère croissance, duvet blanc sous forme de poils.
3 ^e au 4 ^e			Début de petites boules de 1 à 2 millimètres de diamètre, étoilées au début, formées par l'enroulement des filaments les uns dans les autres.
5 ^e au 6 ^e			Augmentation des sphérules en nombre et en dimensions.
7 ^e au 8 ^e			Les plus grosses sphérules ont 4 millimètres de diamètre; les formes étoilées ont disparu pour faire place à de petites boules rondes, ce sont de pelotons de filaments mycéliens. Quelques sphérules s'allongent, d'autres sont vermiculées, sans aspérités, elles sont luisantes.
10 ^e au 12 ^e			Dimensions des sphérules 6 à 8 millimètres; elles grossissent très vite.
15 ^e au 20 ^e			Les plus grosses sphères ont 1 centimètre de diamètre; à ce moment, elles présentent une structure assez caractéristique: en les sectionnant, c'est-à-dire en coupe radiale, elles se montrent formées de deux zones, l'une périphérique blanche, l'autre grisâtre: elles ne sont pas creuses, présentant seulement au centre un léger vide. Les filaments périphériques sont contournés sur eux-mêmes, très cloisonnés, très brièvement ramifiés, ils portent de nombreux bourgeonnements; la membrane est très épaissie. Le protoplasme est bourré de guttules graisseuses. Les monstruosité sont nombreuses. A l'extrémité de certains filaments, des formes dematioides constituées par de nombreux bourgeonnements. Vers le centre de la sphère, les filaments sont encore plus cloisonnés, contenant des <i>chlamydospores</i> ; l'agitation en favorise la formation. Le protoplasme est creusé de vacuoles et les globules de graisse y sont très nombreux.

Examen du liquide surnageant les cultures agitées.

Les filaments dissociés et baignant dans le milieu nutritif sont nombreux. Ils sont presque uniquement constitués par des formes de souffrance, très cloisonnées — formes toruleuses et chlamydospores.

Action de l'agitation sur une culture développée en milieu immobile. — Si l'on prend une culture au repos, âgée de un mois et qu'on la soumette à un régime de 60 secousses à la minute, nous constatons une fragmentation du thalle. Les formes toruleuses augmentent, quelques-unes présentent des aspects bizarres. Elles bourgeonnent activement, ces bourgeons se dissocient à leur tour pour donner des cellules levures. Un peu plus tard, ces cellules souffrent de cette constante agitation et si on la prolonge pendant 25 ou 30 jours, on voit leur protoplasme devenir granuleux. Au lieu de remplir complètement la cellule et lui donner l'aspect turgescent, cet élément vital se condense, il se rassemble au milieu laissant entre lui et la paroi une zone vide. Quelquefois même la membrane éclate et le protoplasme émet au dehors des prolongements analogues aux pseudopodes des amibes ou des leucocytes.

Ces constatations confirment celles que SARTORY [47] a consignées avant nous dans son étude de l'agitation.

Phase de régénération. — Afin de s'assurer que les formes anormales produites sur le *Mucor* par l'agitation n'étaient que des transformations de cet organisme, il était nécessaire de parcourir la suite inverse de cette évolution et reproduire le *Mucor nigrans* avec son mycélium et ses appareils reproducteurs normaux. Nous avons suivi la technique préconisée par SARTORY [47] en ensemençant en culture cellulaire de Raulin normal. La forme levure se met à bourgeonner le 1^{er} jour ; le 3^e jour un filament contourné, cloisonné, se révèle, il se ramifie, les parois présentent

des formes dematioides. Le 7^e jour, les hyphes mycéliennes plus élargies, ont des parois dépourvues des formes dematioides des premiers jours. En vieillissant, la culture gagne peu à peu les formes normales et donne, le 19^e jour, les premiers sporanges.

La régénération est plus hâtive lorsque l'on choisit la carotte comme milieu nutritif : sur ce support on obtient les appareils reproducteurs le 13^e jour.

En résumé, le *Mucor nigrans* subit, du fait de l'agitation du milieu nutritif, dans lequel il vit, des modifications de même nature que celles relatées par les auteurs précités. Il se développe d'abord avec rapidité lorsque les secousses sont espacées, 15 à 20 à la minute ; au rythme de 60 à la minute, le thalle du champignon prend une forme sphérique, l'organisme cherche à résister, il épaissit sa membrane, se cloisonne fortement et produit des chlamydo-spores. Ce dernier fait est indispensable à noter parce que le *Mucor nigrans* ne forme ces appareils de conservation qu'avec difficulté ; l'agitation favoriserait donc leur production.

B. — ACTION DES AGENTS CHIMIQUES.

I. — Oxygène. — Aérobiose et anaérobiose.

La plupart des espèces de moisissures ne constituent leur appareil fructifère qu'en présence de l'air ; KLEBS [30] avait, dès 1896, démontré ce fait relativement à l'*Euratum herbariorum*. Nous avons recherché ce qui se passait pour le *Mucor niger* lorsque la quantité d'oxygène était réduite ou supprimée.

Nous avons préparé un certain nombre de tubes contenant carotte ou pomme de terre simple, chaque culture une fois ouverte devant être considérée comme sacrifiée.

Aussitôt ensemencé, le tube était bouché, en faisant descendre le coton le plus près possible du substratum et le recouvrant d'un mélange solide préalablement fondu, soit purement et simplement de paraffine, soit du mélange de MIQUEL [41], composé de cire, vaseline et paraffine. Sur carotte, la végétation, profitant de la petite quantité d'air ambiant, se développe dans les mêmes délais qu'en air libre, ceci pour les premiers jours du développement. Les sporanges formés au début ne diffèrent pas sensiblement de ceux du tube témoin ; cependant leur pédicelle est plus court, des ramifications s'y rencontrent. A mesure que l'âge de la culture augmente, la différence entre la quantité de sporanges qu'elle contient et celle du témoin devient considérable ; elle est d'ailleurs à l'avantage de ce dernier. Les sporanges secondaires sont petits, globuleux, portés par de courts rameaux.

Le mycélium du *Mucor nigrans*, vivant en atmosphère raréfiée, enchevêtre davantage ses filaments pour donner un feutrage plus cohésif, adhérant fortement au substratum. Ces filaments mycéliens sont sensiblement de dimensions égales à ceux de la culture témoin ; ils ne sont pas cloisonnés, ne contiennent pas de gouttelettes huileuses. Nous n'avons pas rencontré de chlamydospores, ni de zygosporos, dans les dix cultures que nous avons faites, malgré d'attentives recherches. Les choses se passent un peu différemment si la pomme de terre simple est choisie comme support. Les phénomènes végétatifs sont à peu près semblables, quoique plus lents. Les filaments mycéliens sont plus grêles, ils n'ont pas une forme rectiligne constante, ils présentent des formes toruleuses peu accusées, ils ne renferment pas de chlamydospores.

Le *Mucor nigrans*, ensemencé au sein d'un liquide, ainsi que la plupart des moisissures privées d'air, ne constitue pas d'appareils reproducteurs ; il y vit. Dans les milieux nutritifs contenant un hydrate de carbone, il dé-

veloppe une végétation mycélienne, formée de filaments plus ou moins longs, enchevêtrés, d'un blanc soyeux, formant des flocons, d'abord légers, en suspension dans le liquide, plus tard se déposant au fond du récipient sous forme d'un amas cotonneux mobile. Ces filaments mycéliens présentent au bout de quelques jours de culture des cloisons transversales situées de loin en loin sur leur parcours; ensuite on assiste au dédoublement de la membrane de ces cloisons, les angles s'arrondissent, les cellules se décolent en partie, principalement vers les extrémités. Ces dernières, affectant une forme elliptique, se divisent par étranglement donnant naissance à d'autres cellules plus ou moins sphériques, disposées en chapelets. Ce mode d'accroissement basipète du *Mucor nigrans* vivant dans un liquide sucré est le même que celui qui est caractéristique du *Mucor racemosus* Fres.

C'est l'émiettement du mycélium en oidies, qui ont l'apparence de cellules de levûre; d'ailleurs elles ont, vis-à-vis des liquides sucrés, un mode d'utilisation de l'aliment qui rappelle celui de ces ferments du sucre. Nous étudierons plus loin ce rôle ferment.

Nous n'avons pas trouvé de chlamydospores dans les multiples cultures immergées en milieux nutritifs sucrés. L'anaérobiose ne provoque pas la formation de ces organes de conservation très fréquents chez beaucoup d'espèces du genre *Mucor*.

Nous avons souvent constaté des formes variqueuses dans lesquelles de nombreuses guttules d'huile ont été décelées.

Nous n'avons pas non plus constaté la formation de zygosporos. Le fait ne doit pas surprendre, car les *Mucor* sont en général hétérothalliques et nos cultures, ayant leur point de départ dans un petit nombre de spores, ne renfermaient peut-être que des thalles d'un seul signe.

II. — Action des acides, des alcalis et des sels (sulfate de cuivre).

A. Influence des acides sur la végétation.

Nos recherches ont été faites à la température de $+ 22^{\circ}$; le milieu nutritif constitué par du Raulin neutre glucosé, 20^{cc} par matras; l'acide dosé sous forme de gouttes de sa solution normale, le matras n° 1 contenant 2 gouttes, le n° 2, 4 gouttes, le n° 3, 6 gouttes,..... le n° 10, 20 gouttes, et ainsi de suite. Un matras témoin, ne recevant que le même volume de liqueur nutritive, permettait de faire des comparaisons journalières dans des conditions physiques identiques.

1. — **Acide sulfurique.** — Les semis en surface manifestent leur poussée au bout du 1^{er} jour; dans les témoins et le n° 1 elle est sensiblement la même, en progression décroissante dans les autres, pour ne rien déceler dans le n° 5 et suivants. Le second jour, le n° 1 présente un thalle maigre moins abondant que dans le témoin chez lequel on constate un notable accroissement. Ce retard du n° 1 s'accroît dans les suivants pour s'arrêter au n° 5 où le semis n'a pas encore émis de filaments. En témoin, le 3^e jour, le mycélium blanc, copieux, qui s'étale à la surface du liquide, présente quelques points foncés, lesquels sont des sporanges. Dans le n° 1, quoique moins copieuse, la végétation émet quelques hyphes sporangiales, dont un petit nombre se terminent par un renflement gorgé de protoplasme; le n° 2 présente un voile légèrement feutré ayant 2 centimètres de diamètre, on ne peut y déceler d'appareils reproducteurs en formation; il en est de même pour la colonie formée sur le liquide du matras n° 3. Cette culture est moins importante que la précédente, elle est bien supérieure à celle du n° 4. Dans cette dernière, les fila-

ments mycéliens sont sinueux, leur membrane s'épaissit. La végétation se manifeste dans le n° 5 par une simple tache blanche très petite ; les numéros suivants ne donnent encore rien.

Au bout de 4 jours, les matras contenant des quantités d'acide supérieures à celle renfermée dans le n° 5 ne présentent aucune végétation ; le n° 5 lui-même n'a pas modifié de façon apparente son aspect de la veille. Dans le n° 4, on constate une progression de la végétation, le léger voile blanchâtre s'étale, il n'y a pas encore de filaments plus gros les uns que les autres ; cette particularité se remarque dans le n° 3 et ces filaments, dont les dimensions sont supérieures à celles de la majeure partie des autres, sont des hyphes sporangiales. Ces sporophores se trouvent terminés dans le matras n° 2 par des sporanges en formation plus ou moins avancée. Dans le n° 1, un certain nombre d'appareils reproducteurs sont noirs, c'est-à-dire murs ; le matras témoin en contient en grande abondance.

Le 5^e jour, alors que, dans les matras témoin et n° 1, l'augmentation des appareils fructifères s'accroît parallèlement, entre les n° 2 et 3 s'établit nettement une gradation ; l'abondance des sporanges diminue avec l'accroissement d'acidité du milieu. Dans le n° 4, le thalle s'est feutré ; la membrane de ses filaments s'est épaissie ; on ne trouve parmi eux que de rares rudiments d'appareils reproducteurs. La végétation, toujours précaire dans le n° 5 ne se manifeste pas dans les matras contenant une dose d'acide supérieure ; il en sera de même pendant toute la durée de l'expérience. Au bout de 15 jours, 1 mois, 1 mois 1/2, les repiquages du *Mucor*, soumis à l'action de l'acide dans des proportions supérieures à 1 pour 816 de liqueur nutritive, restent inactifs. Pour les doses d'acidité inférieure, celles des matras n° 4, 3, 2 et 1, les progrès de la végétation se manifestent apparemment les 6^e, 7^e, 8^e,

10^e jours ; à partir de cette date, les comparaisons journalières ne présentent pas de particularités macroscopiques et microscopiques notables. Les cultures se développent avec des intensités moindres qu'au début ; reportées sur carotte à la fin de l'expérience, leurs délais de germination diffèrent assez sensiblement.

Nous avons pris leurs poids après 8 jours de végétation :

Témoin.....	0 gr. 500
N° 1 II gouttes.....	0 410
N° 2 IV —	0 200
N° 3 VI —	0 071
N° 4 VIII —	0 014
N° 5 X —	0 005

Les caractères différentiels de la végétation du *Mucor nigrans* se développant au sein du liquide nutritif, additionné d'acide, sont beaucoup plus marqués. Dans le matras n° 1, à la concentration $\frac{1}{4080}$, c'est-à-dire II gouttes, l'ensemencement manifeste sa vitalité, avec la même vigueur que dans le matras témoin, au bout de 1 jour ; moindre dans n° 2 et 3, elle est réelle cependant et inappréciable dans les suivants. L'action retardatrice due à l'acide sulfurique se remarque dès le 2^e jour ; la progression de croissance est diminuée dans le n° 4, dans lequel un simple petit point blanc affirme un début de culture ; dans le n° 3, elle n'a guère progressé, de même que dans le n° 2. Nettement moins importante dans le matras n° 1 que dans le témoin, elle présente un thalle maigre à filaments ténus courts, blancs, peu enchevêtrés, ne décelant rien de notable dans leur aspect.

Examinés le 3^e jour, quelques-uns se cloisonnent ; dans le n° 3, la colonie prend une forme étoilée ; dans le n° 4, l'étoile, moins considérable encore, est soyeuse, blanche, à filaments resserrés contenant des chlamydospores nettement formées ; pas de végétation dans le n° 5.

Le 5^e jour la colonie possède 1 millimètre de diamètre en forme de sphère hérissée de ramifications très courtes, sur le trajet desquelles on rencontre des chlamydospores en assez grand nombre, tel est l'aspect dans le matras n° 4; dans le n° 3, plusieurs colonies; dans 2 le thalle est floconneux de même que dans le n° 1 où il envahit le fond du récipient et prend une couleur blanc sale.

L'organisme ne végète pas encore dans le matras n° 5 au bout de 10 jours, tandis que, dans le n° 4, représentant une concentration approchant de $\frac{1}{1000}$, les sphérules étoilées se sont multipliées, quelques-unes mesurant 1 mm. $\frac{1}{2}$ à 2 mm. de diamètre. Elles atteignent jusqu'à 5 et 5 mm. $\frac{1}{2}$ dans la culture du matras n° 3; les filaments qui les composent, fortement cloisonnés, affectent des formes toruleuses décelant une réelle souffrance de la plante. Nous trouvons ces caractères amoindris dans les matras 1 et 2; la végétation, quoique plus faible, a beaucoup d'analogie comme aspect avec celle du matras témoin; les filaments mycéliens affectent de se terminer en forme de massue; les chlamydospores se constituent ensuite et des guttules de graisses, plus nombreuses à mesure que la dose d'acide croît, s'y rencontrent et augmentent lorsque la culture vieillit. Le 18^e jour, si l'on sort du liquide acidifié, à moins de $\frac{1}{1500}$, c'est-à-dire la dose introduite dans le matras n° 3, une des sphérules, du *Mucor*; on la trouve sans consistance, elle se déprime et prend un aspect informe si on la dépose sur une surface horizontale, une plaque de verre par exemple; réintroduite dans le milieu, elle reprend sa forme. Elle est composée de filaments enchevêtrés, nettement cloisonnés, contenant de nombreuses chlamydospores; de nombreuses guttules de graisse se rencontrent dans les vacuoles; le protoplasme a souvent disparu. Quelquefois ces filaments affectent la forme de chapelets à grains sphériques reliés entre eux par de fines hyphes cylindri-

ques cloisonnées. D'autres fois, ce sont des théories de vésicules, très inégales, de formes irrégulières, présentant des ramifications, à cloisons épaisses et contenant, intercalées, des chlamydospores nombreuses.

Le *Mucor nigrans* végète peu dans le matras n° 4, ses progrès deviennent de moins en moins apparents, par comparaison avec ce qu'il était la veille ; mais indéniable est son accroissement lent et, à mesure que sa durée de contact avec l'acide croît, le *Mucor* multiplie ses vacuoles et le protoplasme disparaît concurremment.

Au bout de 1 mois, nous n'avons obtenu aucun développement dans les matras à partir du n° 4. L'acide sulfurique, à la dose de 1 gr. 225 par litre, soit dans la proportion de $\frac{1}{846}$, introduit dans du liquide Raulin neutre glucosé, s'oppose de façon catégorique à la vie du *Mucor nigrans* dans ce milieu.

2. — **Acide azotique.** — Cet acide entrave aussi la végétation de la *Mucorinée*, mais la dose en poids est un peu plus considérable que pour l'acide sulfurique. Au bout d'un jour, la végétation s'accuse dans les matras n° 1 et n° 2 ; ces colonies, provenant du semis en surface, présentent le même aspect que dans l'expérience précédente ; elles constitueront leurs hyphes sporangifères entre le 3° et le 4° jour, celle du n° 2 avec un retard et une luxuriance moindre que 1.

La culture dans le matras n° 3, contenant VI gouttes d'acide, soit moins de $\frac{1}{1000}$ se révèle comme certaine après 3 jours d'ensemencement ; dans les concentrations supérieures, aucune manifestation. La maturité des premiers sporanges formés se produit le 7° jour pour le matras n° 1, le 9° ou 10° jour pour la culture n° 3 ; à cette date, le n° 3 émet ses premiers sporophores et le n° 4 offre quelques colonies, formées de légères taches duveteuses, blanches.

Les matras n^{os} 5, 6, 7, etc., ne donnent rien; il en sera ainsi au bout de un et deux mois. Les progrès de la végétation diminuent à mesure que la culture vieillit. Les filaments du thalle ne sont pas cloisonnés dans les matras contenant les premières doses d'acidité; les filaments fructifères sont ramifiés davantage à mesure qu'augmente la proportion d'acide; les sporanges secondaires sont petits, globuleux, de couleur plutôt brune que noire.

Comparativement à l'accroissement de la quantité d'acide le poids de la culture décroît davantage.

Les cultures immergées sont plus vigoureuses, elles débutent franchement; dès le second jour, la végétation du matras n^o 1 est à peu près égale à celle du témoin, le mycélium est floconneux, lâche, les filaments sont cylindriques; l'organisme végète de façon certaine dans 2 et 3.

Le 5^e jour, un retard s'accuse dans la luxuriance de la culture n^o 1 sur celle du matras témoin; le *Mucor* s'est développé dans le n^o 3 (0 gr. 975 d'acide pour 1.000); le mycélium est condensé; quelques cloisons existent sur les gros filaments mycéliens; leur forme est variqueuse, les extrémités sont bourgeonnantes, on y rencontre de nombreuses guttules de graisse, des chlamydospores y sont nettement constatées. Le nombre de ces dernières augmente à mesure que le séjour dans le milieu se prolonge; à cette date, dans le matras n^o 4, la végétation de l'organisme s'accuse par une petite colonie en forme d'étoile; elle s'enroule en forme de bouclé, bien accusée le 15^e jour; son accroissement est ralenti par la suite. Les ensemencements des matras n^{os} 5, 6, 7 n'ont encore rien donné après 20 jours, il ne s'y est rien développé au bout de 6 semaines; le *Mucor* ne vit plus dans le Raulin neutre glucosé contenant 1 gr. 575 pour 1.000 d'acide azotique.

Les cultures émergées, tuées le 8^e jour et pesées, ont donné :

Témoin.....	0 gr. 488
N° 1.....	0 403
N° 2.....	0 205
N° 3.....	0 098
N° 4... ..	0 031

montrant que des doses faibles d'acide influencè fâcheusement la végétation.

3. — *Acide chlorhydrique*. — Le *Mucor nigrans* s'accommode davantage de la présence de cet acide hydrogéné dans son milieu nutritif, puisque nous avons réussi à le faire végéter dans une dose plus forte que celle dans laquelle il avait refusé de pousser au début, réalisant ainsi l'accoutumance vis-à-vis de cet hydracide.

A la concentration de 0 gr. 1825 par litre, les appareils reproducteurs apparaissent le 4^e jour, alors que dans le témoin les sporanges sont murs ; à cette même date, les sporangiophores sont nettement caractérisés pour une teneur de 0 gr. 365 d'acide chlorhydrique. L'effet nocif se traduit donc par un retard d'un jour dans les phénomènes végétatifs comparés à ceux du témoin ; mais l'action fâcheuse se caractérise beaucoup plus pour une concentration de 0 gr. 5475 ; il faut attendre le 7^e jour pour constater la formation des appareils reproducteurs qui ne se montreront que le 10^e pour un titre de 0 gr. 73 par litre.

La végétation immergée concorde : alors que les faibles proportions d'acide permettent le développement d'un thalle floconneux, l'acide chlorhydrique à la dose de 0,5475 par litre lui fait prendre un aspect sphérique, marquant une souffrance très nette, pour arriver à une forme étoilée dénotant une végétation excessivement pénible dans une concentration de 0 gr. 9125. L'apparition des chlamydospores est subordonnée à la concentration en acide ou à la durée du contact.

Le *Mucor* a refusé de végéter, immergé ou émergé, dans du Raulin neutre contenant 1 gr. 095 par litre.

Les récoltes, après 8 jours de végétation en surface donnent :

Témoin.....		0 gr.480
Concentration par litre.....	0 gr.1825	0 gr.389
— —	0 gr.365	0 gr.210
— —	0 gr.5475	0 gr.187
— —	0 gr.73	0 gr.110
— —	0 gr.9125	0 gr.049

Ces poids confirment la nocivité de l'acide chlorhydrique dont la proportion en poids, par litre de liquide, est inférieure à 1 pour 1.000.

4. — **Acide acétique.** — Parmi les acides organiques, nous avons choisi l'acide acétique. Possédant un degré d'assimilabilité important, son pouvoir infertilisant est moindre que celui des acides minéraux. L'acide que nous avons employé, de densité 1,074, contenait seulement 80 % d'acide acétique anhydre ; nous l'avons ajouté au liquide de Raulin neutre glucosé aux doses de 0 gr. 70, 0 gr. 95, 1 gr. 15, 1 gr. 40, 1 gr. 65, 1 gr. 90, 2 gr. 15 d'acide anhydre par litre. On obtient ce dosage en ajoutant à 200^{cc} de liqueur nutritive 8 gouttes d'acide acétique pour le 1^{er} titre, 11 gouttes pour le second, 14 gouttes pour le 3^e et ainsi de suite, en augmentant de 3 gouttes chaque fois.

L'influence de l'acide ne se fait pas sentir aux concentrations 0,70 et 0,90 par litre ; le *Mucor* végète en surface aussi copieusement que dans le témoin au bout de 2 jours d'ensemencement ; l'évolution du champignon, quant à la formation de ses appareils fructifères, retarde d'un jour pour l'acidité la plus faible sur ce qui se passe en témoin ; ce délai atteint 2 jours pour une teneur de 0 gr. 90, 4 jours pour 1 gr. 15, 7 jours avec 1 gr. 40, 9 ou 10 jours pour 1,65. Ce retard se manifeste aussi, plus apparemment encore, dans l'envahissement de la surface du substratum ; à la concentration de 1 gr.90, il faut attendre 3 jours 1/2 pour noter un début de végétation. Pour une acidité

de 2 gr. 15 par litre, il est nécessaire d'attendre 5 ou 6 jours pour observer une petite colonie punctiforme, blanche, qui n'augmentera pas de façon sensible en un mois et ne constituera pas d'appareils sporangifères. Au-dessus de cette concentration, c'est-à-dire 2 gr. 40 par litre, le *Mucor nigrans* refuse de végéter et, reporté sur carotte après un séjour de 48 heures, il ne se développe pas. La marche envahissante de la culture est en raison inverse de l'acidité : plus cette dernière augmente plus le mycélium est maigre ; les sporangiophores sont plus petits ainsi que les sporanges eux-mêmes.

La végétation en profondeur offre une luxuriance décroissante à mesure qu'augmente le titre en acide du milieu. Les filaments mycéliens sont contournés, leur membrane épaissie, ils affectent des formes variqueuses, se cloisonnent davantage, donnent des chlamydo-spores nombreuses lorsque la teneur en acide s'élève. On y trouve aussi des guttules de graisse. L'aspect macroscopique de cette végétation immergée est sensiblement semblable à celui rencontré dans les milieux contenant les acides minéraux ; les caractéristiques de développement seraient favorables à une marche plus rapide dans les débuts de l'expérimentation, mais l'action nocive, retardative par essence, ne tarde pas à se manifester effectivement.

5. — *Acide borique*. — Cet acide très faible, considéré par STERNBERG [49] comme un antiseptique anodin, est funeste au développement du *Mucor nigrans*. Dans les matrass contenant du Raulin neutre glucosé, additionné de 0,25, 0 gr. 50, 0 gr. 75, 1 gr., 1 gr. 25 d'acide borique par litre, la végétation s'est manifestée dans les concentrations, avec des luxuriances de moins en moins grandes. Pour une teneur d'acide de $\frac{1}{600}$, soit 1 gr. 65 par litre, l'organisme n'avait rien donné au bout d'un mois. Les caractères macroscopiques et microscopiques, sensiblement

semblables à ceux rencontrés dans l'expérimentation de l'acide azotique, ne présentent pas de particularités notables. Si l'on rapproche les doses limites de l'acide nitrique, que l'on peut qualifier de corrosif violent, de celles de l'acide borique, qui est un acide minime, on est surpris de leur similitude. L'acide azotique s'oppose à la végétation du champignon lorsqu'il atteint la proportion de $\frac{1}{700}$, c'est-à-dire 1 gr. 42 par litre, l'acide borique le laisse encore vivre très péniblement à cette concentration, mais à $\frac{1}{600}$ il s'oppose nettement à tout développement.

L'aversion du *Mucor nigrans* pour l'acide borique se retrouve chez le *Mucor mucedo*, ainsi que l'a constaté M. Alf. LE RENARD [34]. Cet expérimentateur a remarqué aussi la concordance des actions nocives de ces deux acides ; il met sur le compte de la différence d'assimilabilité le pouvoir toxique de l'acide borique, tandis que le facile entraînement de l'acide azotique dans l'échange de substances amoindrirait son action destructive.

Les acides minéraux ou organiques que nous avons expérimentés ont pour effet de faire subir à la végétation immergée du *Mucor nigrans* d'importantes modifications. Lorsque l'acide est en très petite quantité dans le milieu nutritif, on constate un développement normal du thalle ; mais à mesure que la culture vieillit ou que la proportion d'acide augmente, les filaments mycéliens cherchent à résister et pour cela ils se transforment. D'abord les extrémités se renflent en forme de massue, la membrane s'épaissit ; ensuite les chlamydospores apparaissent, leur nombre augmente avec la durée du contact ou le taux de l'acidité. Le cloisonnement des articles du thalle se fait plus fréquent ; les guttules de graisse se montrent de plus en plus nombreuses, les cellules se séparent davantage. L'importance de la végétation du *Mucor* diminue de plus en plus pour ne donner que de petites colonies, affectant

une forme sphérique ou étoilée ; elles sont flasques sans aucune consistance.

B. — Accoutumance aux acides.

Il nous a paru intéressant de rechercher si, laissant vieillir le *Mucor* dans un milieu nutritif acidifié, cet organisme était susceptible de s'adapter à ce genre de vie et acquérir conséquemment la possibilité de végéter en présence de dose d'acide supérieures à celles qui, de prime abord, s'opposaient à tout développement.

Nous avons employé la technique suivante : des matras contenant la liqueur nutritive acidifiée à la dose limite sont constituées en séries et, afin d'augmenter insensiblement la dose d'acide, additionnés de 1 goutte de solution décinormale pour le premier, 2 gouttes pour le second et ainsi de suite. La semence puisée dans un matras, acidifié à la dose limite et contenant une végétation certaine de l'organisme, était introduite dans un témoin dont l'acidité était la même ; le *Mucor* y continuait son développement. Le lendemain on ensemençait, en prenant une partie de cette culture, le ballon dont l'acidité était supérieure à 1 goutte de solution décinormale. Si la végétation se manifestait dans ce dernier, on ensemençait, avec la prise de semis qu'il pouvait fournir, le matras contenant 2 gouttes et ainsi de suite, reportant à une dose supérieure la *Mucorinée* lorsque son développement permettait d'en prélever l'ensemencement.

1. — *Acide chlorhydrique*. — Une série de matras contenant 20^{cc} de Raulin neutre glucosé acidifié à 0 gr. 9125 par litre, dans le 1^{er} on introduit une goutte de solution décinormale de cet hydracide ; dans le 2^e, 2 gouttes ; le 3^e, 3 gouttes . . . Les passages du témoin au n° 1, du n° 1 au n° 2,

ont demandé 1 jour ; celui du n° 2 au n° 3 a réclamé 30 heures ; pour ensementer sûrement le n° 4 avec la végétation du n° 3, il a été nécessaire d'attendre 36 heures pour y puiser le semis. Le délai s'accroît à mesure que la quantité de gouttes augmente. La transition du n° 4 au n° 5 réclame un séjour de 40 et quelques heures. Dans le n° 5, le retard de la végétation est beaucoup plus considérable, il faut attendre 5 jours avant de puiser l'ensemencement du n° 6. Le passage du n° 6 au n° 7 demande 8 jours ; celui des n° 7 à 8 exige 10 jours ; ce délai doit être porté à 15 jours pour l'acclimatation du n° 8 au n° 9.

Nous avons essayé de provoquer une végétation plus rapide en puisant la semence dans des concentrations moindres, par exemple prenant dans le n° 4 le semis destiné au n° 6. Dans ce cas, la culture est d'abord plus âgée, ensuite son acclimatation à l'acide est susceptible de venir aider la reprise dans une dose supérieure. Nous avons enregistré des insuccès, mais aussi des réussites.

Lorsque avec la colonie du matras n° 5 nous voulons obtenir une végétation dans le n° 6, il faut que son séjour dans le n° 5 soit d'au moins 5 jours ; mais si la prise d'ensemencement a été faite dans le n° 4, le délai de séjour est abaissé à 3 jours $1/2$; si ce prélèvement est fait 1 jour plus tôt, le résultat est négatif. A mesure que le taux de l'acide augmente, les délais de séjour croissent aussi. Pour passer du matras n° 8 au matras n° 9, il faut 15 jours, avons-nous dit ; ce délai se ramène à 12 jours si l'on a puisé dans le n° 7 et à 10 jours si la prise d'ensemencement a été puisée dans le n° 6.

Pour obtenir une culture du *Mucor* dans le flacon n° 10 il est nécessaire d'augmenter considérablement la durée du séjour de l'organisme dans les solutions de concentration acide moindre. Nous avons enregistré la nécessité de ne puiser l'ensemencement qu'au bout de :

10 jours dans le matras	n° 4
14	— n° 6
20	— n° 7
23	— n° 8
29	— n° 9

La *Mucorinée* a refusé absolument de végéter à une acidité supérieure ; nous avons même constaté que les colonies vivant dans les divers ballons 9-8-7-6-5-4... portées dans le milieu nutritif contenant 11 gouttes de solution décinormale en plus de la concentration limite en acide chlorhydrique ne manifestaient plus de vitalité en les repiquant sur carotte. Le *Mucor* arrive donc à s'acclimater à une augmentation de $\frac{1}{10}$ de la quantité d'acide chlorhydrique qui lui permettait de vivre péniblement. On y rencontre de nombreuses chlamydospores ainsi que des guttules huileuses.

2. — *Acide azotique*. — Les tentatives d'accoutumance vis-à-vis de cet acide n'ont pas donné de résultat très appréciable ; l'organisme végète avec beaucoup de peine dans le milieu nutritif contenant $\frac{1}{40}$ d'acide en plus que la dose limite.

3. — *Acide sulfurique*. — La proportion de cet acide qu'on peut ajouter à la dose infertilisante est encore plus infime ; le *Mucor* refuse de végéter si l'augmentation est de $\frac{1}{80}$; encore à cette dose meurt-il souvent.

Sauf pour l'acide chlorhydrique, le fait de laisser le *Mucor nigrans* vivre plus ou moins longtemps dans un liquide acidifié ne permet pas une adaptation de son mycélium à une vie pénible ; adaptation qui lui permettrait de supporter une quantité d'acide supérieure à la dose maxima qui le laissait encore végéter.

C. Influence des Alcalis.

Pour rechercher les modifications apportées par l'addition d'alcalis au milieu nutritif constitué par du Raulin neutre glucosé, nous ajoutons à 20^{cc} de cette liqueur des quantités croissantes de gouttes de la solution normale de ces alcalis.

1. — **Potasse.** — Dans le matras n° 1, contenant 2 gouttes de la solution normale de cet alcali, l'ensemencement superficiel présente au bout de 1 jour un petit point blanc dénotant le début de végétation de l'organisme. Le 3^e jour, cette colonie est moins importante que dans le témoin ; dans le matras n° 2, lequel a reçu 4 gouttes, la culture se manifeste sous forme d'un voile blanc ; en présence de 6 gouttes (n° 3), elle se réduit à un gros point blanc, à peine appréciable dans le matras n° 4 et rien dans ceux contenant des quantités plus considérables d'alcali. Cette substance exerce une action retardatrice dans l'évolution des appareils fructifères, leur formation ne se produit que le 5^e jour, dans le matras n° 1, alors qu'en témoin un certain nombre de sporanges sont mûrs ; dans le n° 2, au bout de 6 jours, on rencontre de courts sporophores terminés par des renflements incolores, auxquels il faut 1 ou 2 jours encore pour prendre la couleur noire des appareils reproducteurs ayant atteint leur maturité. Aux concentrations supérieures — n°s 3 et 4 — la colonie, constitué par un voile blanc, légèrement feutré, de dimensions moindres à mesure que croît la proportion de potasse, forme ses hyphes sporangifères le 7^e jour pour le n° 3, le 9^e pour le n° 4 ; dans ce dernier, la végétation est considérablement entravée ; l'îlot qui la constitue a 1 cent. 1/2 de diamètre, il n'aura pas augmenté d'une façon sensible au bout d'un mois. Le champi-

ignon ne se développe pas du tout dans le matras n° 5, représentant une proportion de 1 gr. 40 par litre de liqueur nutritive. L'action nocive de l'alcali se révèle avec la même intensité vis-à-vis de la culture immergée du *Mucor nigrans*. La végétation ne paraît pas entravée par la présence de la potasse dans les matras 1 et 2 lors de son début. Dès le 3^e jour, la teneur du n° 2, qui correspond à 0 gr. 56 par litre, a pour effet de condenser le mycélium ; les filaments sont déjà déformés ; leurs dimensions plus considérables, peu cloisonnées, sont irrégulières ; on y trouve quelques chlamydospores. Le 7^e, jour dans le matras n° 4, contenant 1 gr. 12 d'alcali par litre, de petites sphérules blanches sont en suspension dans le liquide, formées par la condensation du thalle, qui prend des formes toruleuses offrant de nombreux cloisonnements ; elles ne s'accroîtront pas en vieillissant dans ce milieu. Une plus grande proportion de potasse s'oppose nettement à toute germination.

2. — **Soude.** — Cette base est certainement moins favorable à la végétation du Champignon que la précédente. Les semis en profondeur se développent très rapidement dans les concentrations de 0 gr. 20 et 0 gr. 40 par litre ; la présence de 1 gr. de soude par litre n'entrave pas la germination de l'ensemencement ; on la constate au bout de 2 jours sous forme d'une petite étoile soyeuse, blanche, en suspension dans le milieu. Mais dans le matras n° 6, correspondant à 1 gr. 20 par litre, tout développement est empêché ; à mesure que vieillissent les cultures, le nombre des chlamydospores augmente, les filaments mycéliens se déforment davantage, épaississent leur membrane.

Les cultures se développant à la surface du substratum sont copieuses, blanches, constituent des hyphes sporangiales assez rapidement, marquant cependant des

retards appréciables à mesure que s'accroît la quantité d'alcali. Dans les matras n° 1 et témoin, leur production a lieu en même temps le 3^e jour ; dans les n° 2 et n° 3, on constate un retard de 1 jour 1/2 sur les précédents. Le délai d'apparition augmente sensiblement pour une alcalinité de 0,80 par litre, titre du n° 4 ; il faut attendre 9 jours pour trouver de courts sporophores terminés par de petits sporanges globuleux, la culture est feutrée, ridée à sa surface, dénotant une réelle souffrance. Les filaments mycéliens ont abandonné leurs formes cylindriques pour des contours sinueux inégaux ; cloisonnés dans les cultures âgées, ils se terminent en massues, quelquefois en doigts de gant. Lorsque la quantité de soude atteint 1 gr. 20 pour 1 litre de substratum, le *Mucor* ne se développe pas du tout, même après 1 mois et 1 mois 1/2.

Nous avons pesé les récoltes d'une culture âgée de 8 jours :

	POTASSE		SOUDE	
	Titre par litre	Poids	Titre par litre	Poids
Témoin.....		0 gr. 851		0 gr. 867
N° 1.....	0 gr. 28	0 804	0 gr. 20	0 798
N° 2.....	0 56	0 591	0 40	0 591
N° 3.....	0 84	0 401	0 60	0 410
N° 4.....	1 12	0 140	0 80	0 200
N° 5.....			1 00	0 098

D. Action des sels métalliques.

Action du sulfate de cuivre. — Ce produit étant fréquemment employé dans la confection des bouillies ou solutions anticryptogamiques, nous avons étudié l'action antiseptique de ce sel sur la végétation du *Mucor nigrans*. Nous avons fait dissoudre dans du Raulin normal des

quantités croissantes de ce sel, chimiquement pur. Après refroidissement complet, les matras sont ensemencés avec une culture sur carotte, âgée de 8 jours, ensuite le tout est porté à l'étuve à $+ 22^{\circ}$.

Voici les résultats obtenus :

Avec une dose de 5 gr. de sulfate de cuivre par litre, aucune végétation n'apparaît, même au bout de 2 mois ; à cette concentration, des cristaux bleu-verdâtre sont déposés au fond du matras dès le 5^e jour. Ces cristaux sont formés de tartrate de cuivre et il est facile d'en obtenir de semblables en mélangeant à chaud deux solutions étendues, l'une de sulfate de cuivre l'autre d'acide tartrique.

Il est en outre intéressant de remarquer l'absence de végétation dans ce liquide nutritif privé de cristaux par décantation et réensemencé.

A la concentration de 3 gr. 33 par litre, le 4^e jour, on trouve de petites colonies sphériques, blanches, ayant 1 millimètre de diamètre, dont l'accroissement est très lent, car le 9^e jour leur diamètre est à peine de 3 millimètres. La culture souffre considérablement et le duvet blanc, constituant la végétation émergée, conserve sa couleur ; même au bout d'un mois, nous n'apercevons pas traces d'appareils reproducteurs. A 2 gr. 50, traces de germination ; la colonie un peu plus étalée mesure 2 millimètres de diamètre, elle restera toujours peu vigoureuse. La présence de l'antiseptique a pour effet de faire souffrir la plante ; à mesure que la quantité de sulfate de cuivre décroît, la colonie s'étale, ses hyphes sporangiales s'allongent, les filaments mycéliens deviennent de plus en plus réguliers, cylindriques, la culture acquiert de la luxuriance. Si à cette vigoureuse végétation on ajoute des doses successives de sel de cuivre, les phénomènes inverses se reproduisent intégralement. A 2 gr., le *Mucor* pousse au bout de 3 jours en colonies

amassées, s'étalant ensuite, se soudant irrégulièrement et constituant un voile à la surface du liquide ; le 11^e jour, des rudiments d'appareils reproducteurs y apparaissent. Ce dernier phénomène exige 23 jours pour se produire dans la concentration de 2 gr. 50 à 1 gr. 33 par litre ; l'aspect plus important de la culture la différencie seulement des précédentes. Plus vigoureuse encore à 1 gr. par litre, la végétation possède des sporanges mûrs le 10^e jour ; à 0,50, la précocité de cette formation se manifeste entre le 8^e et 9^e jour. A 0,33 et 0,25 par litre, végétation et importance sensiblement égales à ce qui se passe en témoin.

Dans un semis en profondeur, les entraves qu'apporte le sulfate de cuivre à la végétation du champignon se révèlent aussi importantes. Les filaments du thalle subissent des déformations variées : formes variqueuses, monstruosité mucoriennes, formes oïdiennes, signalées déjà par BEAUVERIE [10] dans son étude sur l'action de ce sel. Nous trouvons des épaisissements de la membrane ; ce fait se produit non seulement pour le sulfate de cuivre, mais encore chaque fois que nous avons introduit une substance nuisible à la végétation dans le milieu nutritif. Le *Mucor* résiste par tous les moyens ; son thalle se condense, prend des formes toruleuses, se charge de guttules de graisse, facilement décelables par l'acide osmique ou le Sudan III.

Aux concentrations de 0 gr. 25, de 0 gr. 33 par litre, la culture immergée est sensiblement aussi luxuriante que dans le matras témoin pendant toute la durée de l'expérimentation. A 0 gr. 50, un retard se constate dans le début de germination, puis dans la luxuriance de la colonie ; à 1 gr., ce phénomène est plus marqué, l'organisme ne commence à végéter qu'après 3 jours d'ensemencement ; à la même époque, il y a aussi début de végétation dans les concentrations de 1 gr. 33 et de 2 gr. par

litre. Pour une teneur en sulfate de cuivre de 2 gr. 50, nous trouvons, le 5^e jour, une petite sphérule de 1 millimètre de diamètre nageant dans la liqueur nutritive ; à 3 gr. 33, la culture se développe très peu, elle affecte la forme d'une boule dont les dimensions maxima de 3 millimètres de diamètre seront atteintes 11 à 12 jours après l'ensemencement. Des doses supérieures de sel de cuivre, 4 gr. et 5 gr. par litre, s'opposent à tout développement.

Nous n'avons pas trouvé de chlamydospores dans les filaments mycéliens de la culture immergée.

En résumé, l'action sur la végétation du *Mucor nigrans* des divers agents chimiques que nous venons d'étudier, donne lieu aux remarques suivantes :

1^o La présence de l'air est indispensable à la formation des sporanges ;

2^o Lorsque les cultures sont faites en atmosphère confinée ou à l'abri de l'air, l'organisme ne constitue pas de chlamydospores ;

3^o Végétant dans un milieu nutritif additionné d'acides (sulfurique, azotique, chlorhydrique, acétique, borique), d'alcalis (potasse, soude), ou de sulfate de cuivre, le *Mucor nigrans* ne s'en trouve pas incommodé lorsque la quantité de ces produits est infime ou que les cultures sont jeunes. Lorsque la durée du contact se prolonge ou que la dose augmente, même pour des doses restreintes, le *Mucor* souffre, l'extrémité de ses filaments se renfle en forme de massue, il constitue ensuite ses formes de résistance : cloisonnements, épaissement de la membrane ; puis apparaissent parfois des chlamydospores ; les articles formés par cloisonnement se différencient de plus en plus les uns des autres, leurs formes toruleuses s'accroissent en même temps qu'apparaissent les globules de graisse.

L'action nocive des acides ou alcalis a pour principal effet de provoquer l'apparition des chlamydospores ; cette

forme de conservation, que le *Mucor nigrans* produit difficilement dans les conditions ordinaires de végétation, ne s'est pas révélée en présence du sulfate de cuivre, de plus nous ne l'avons trouvée dans aucune des cultures aériennes faites en présence des autres agents chimiques que nous avons expérimentés.

CHAPITRE II.

Biologie générale et manifestations vitales du *Mucor nigrans*.

Après avoir examiné les modifications apportées à la croissance et aux caractères morphologiques du *Mucor nigrans* par les agents physiques et chimiques, nous étudierons le développement de cette *Mucorinée* sur les divers milieux nutritifs où elle se développe librement : milieux naturels de composition indéterminée, milieux normaux de composition définie.

Nous examinerons ensuite comment ce *Mucor* utilise un certain nombre d'aliments.

§ 1. Développement sur divers milieux.

A.— MILIEUX SOLIDES.

1. **Carotte.** — Ce substratum est un excellent milieu de culture pour le *Mucor*. Au bout de trente-six heures, les colonies duveteuses, blanches, saillantes, occupent des surfaces de deux à trois millimètres. Le troisième jour, le mycélium, copieux, laisse émerger les hyphes sporangifères, se terminant le cinquième jour par des sporanges murs ; à ce moment, l'hyphe sporangiale est rarement ra-

meuse. Vers le 6 ou 7^e jour, un seul filament s'en détache; c'est le début d'un sporangiophore secondaire, faisant avec l'initial un angle aigu. Ce rameau s'allonge presque parallèlement à celui qui lui a donné naissance, le dépasse fréquemment et se termine par un sporange, se colorant en noir le 9^e jour (Pl. I, fig. 1).

Ces sporanges sont remplis de spores nombreuses, les unes rondes, les autres ovales; quelques-uns ne contiennent que des spores rondes. Au bout de 15 jours, la végétation a envahi tout le substratum.

Des semis puisés sur des cultures âgées de plusieurs mois, voire d'une année et plus, reportés simultanément sur les mêmes supports, témoignent de la vitalité toujours égale du champignon. Les sporanges secondaires sont peu volumineux; ils sont en nombre très grand; à partir du 20^e jour, on ne rencontre plus qu'eux, les appareils reproducteurs initiaux ayant opéré leur déhiscence, en laissant un fragment de leur membrane former une collerette à la base de la columelle.

2. Pomme de terre simple. — La croissance est un peu moins rapide que sur le précédent milieu, les colonies âgées de 36 heures sont moins saillantes, moins mamelonnées, l'aspect duveteux est le même, de couleur blanche, elles affectent des formes étoilées. Ces colonies s'étendent, se rencontrent, se soudent et donnent naissance aux sporangiophores le 5^e jour. Les sporanges terminaux se développent et leur maturité, dès la fin du 6^e jour, se traduit par la couleur noire qu'ils prennent. Ils ne tardent pas à disséminer leur contenu. L'examen d'une culture âgée de 8 jours montre des columelles piriformes, de couleur jaunâtre, munies d'une collerette

La culture recouvre la moitié du substratum vers le 10^e jour; les hyphes sporangiales sont ramifiées une ou deux

fois, on rencontre aussi sur leur trajet des sporanges sessiles de forme globuleuse.

3. *Pomme de terre glycinée*. — Sur ce support la végétation est nettement retardée ; elle ne débute qu'au bout de 2 jours par de petites colonies blanches, duveteuses, ayant 1 millimètre de diamètre ; à la loupe on y remarque de légers plissements. Le 4^e jour, la culture s'est étalée ; elle donne, entre le 6 et 7^e jour, les premiers pédicelles sporangiaux. Les appareils reproducteurs mûrissent comme dans les deux cas précédents, en 24 heures. L'allure de la poussée du *Mucor* diffère, surtout au début, de ce qu'elle était sur pomme de terre simple.

En présence de glycérine, l'organisme semble souffrir ; en vieillissant, la luxuriance de la culture devient sensiblement égale à celles que nous avons décrites.

4. *Pomme de terre acide, à 2⁰/₁₀ d'acide lactique*. — Les cultures, moins luxuriantes que sur pomme de terre simple, sont plus duveteuses que sur pomme de terre glycinée. Les colonies, semblables à de petits disques blancs, présentent des plis moins accentués que dans le cas précédent, et leur régularité est plus imparfaite.

Les hyphes sporangifères émergent dès le 6^e jour ; leurs ramifications, inférieures en nombre à celles du *Mucor* végétant sur pomme de terre glycinée, sont, comme elles, plus grosses que les filaments du thalle. Les sporanges secondaires, plus petits que ceux formés par les pédicelles initiaux, sont globuleux, de couleur bistre, portés par des rameaux plus ou moins longs ; on en rencontre fréquemment de sessiles sur le sporangiophore principal. La maturité de ces organes reproducteurs arrive vers le 15^e ou 18^e jour ; leur columelle est tantôt ovale, tantôt globuleuse, de couleur jaunâtre s'assombrissant jusqu'à la couleur terre

PLANCHE II.

Mucor nigrans.

Aspect du thalle en présence de différents composés chimiques.

EXPLICATION DES FIGURES.

Liquide de Raulin neutre glucosé avec :

- a) Acide sulfurique, 0 gr. 49 p. 1000 — 4 jours.
 - b) — 0 gr. 49 — 15 jours. Cloisonnement des tubes, épaissement des membranes,
 - c) Acide sulfurique, 0 gr. 735 p. 1000 — 18 jours. Chlamydo-spores.
 - d) Acide azotique, 0 gr. 63 p. 1000 — 8 jours.
 - e) Acide chlorhydrique, 0 gr. 182 p. 1000 — 8 jours.
 - f) Liquide Raulin normal avec 0 gr. 50 p. 1000 de sulfate de cuivre. Culture de 8 jours.
 - g) Liquide de Raulin normal maltosé avec 0 gr. 50 p. 1000 de sulfate de cuivre. Culture de 4 jours.
 - h) Liquide de Raulin normal galactosé, avec 0 gr. 50 p. 1000 de sulfate de cuivre. Culture de 5 jours.
-

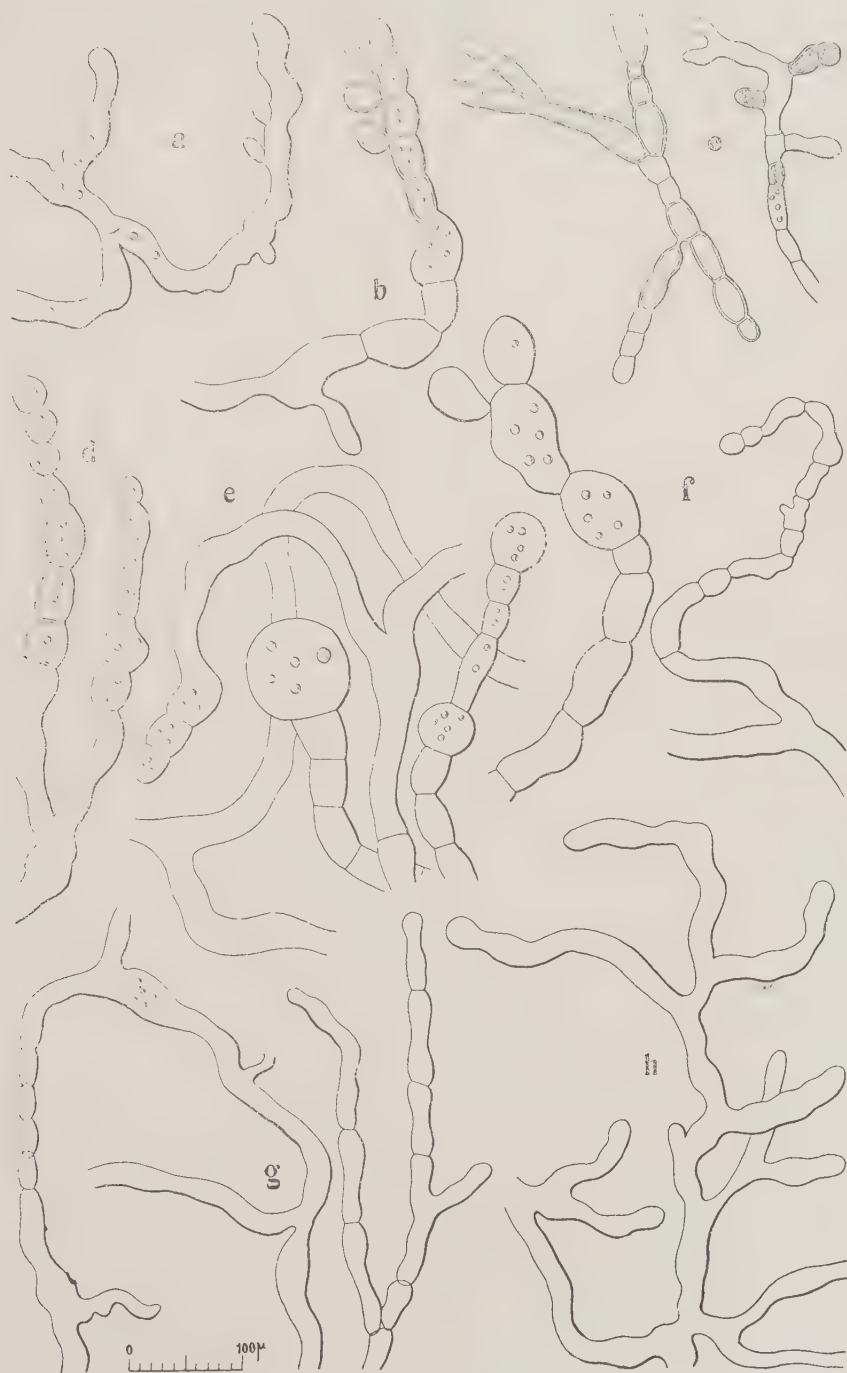


PLANCHE II.

Mucor nigrans.

d'ombre naturelle. La membrane des sporangès est toujours hérissée de très fines aiguilles d'oxalate de chaux.

5. *Sur topinambour.* — L'aspect cultural ne diffère que très peu de celui décrit sur pomme de terre simple ; seule la luxuriance est moindre et permet d'en déduire que ce substratum est moins nutritif.

6. — *Sur Banane.* — Le milieu convient davantage, sans doute à cause de sa richesse en sucre ; la végétation débute entre le 1^{er} et le 2^e jour par des colonies duveteuses, blanches, saillantes, ayant 2 millimètres environ de diamètre. Leur luxuriance ne tarde pas à les faire se rencontrer, se souder, pour constituer un gazon duquel émergent le 3^e ou 4^e jour des hyphes très blanches, bien dressées, se terminant par des sporanges qui noircissent le 5^e jour. Ces hyphes sporangiales ne donnent généralement qu'une ramification portant à sa partie terminale un sporange globuleux moins volumineux que le principal.

7. — *Sur Betterave.* — Ce substratum est le plus favorable. En un jour, la végétation est déjà très abondante ; le 3^e, une véritable forêt de sporangiophores en émerge et un certain nombre se terminent par de gros sporanges incolores qui seront mûrs le lendemain. Les filaments du thalle sont très blancs, ils s'enchevêtrent, ne présentent ni cloisons, ni excroissances ; des sporanges globuleux sessiles se forment, à partir du 4^e jour, sur les pédicelles sporangiaux. La culture, de même que sur Banane, Carotte, conserve très longtemps sa vitalité. Le vieillissement des milieux de culture ne paraît pas nuire au développement sur Carottes, Betteraves préparées depuis de nombreux mois ; les semis se sont montrés aussi vigoureux et la végétation aussi rapide que sur ces mêmes substrata récents.

8. — *Sur farine de lin cuite.* — Le milieu, de consistance ferme, obtenu en délayant dans un peu d'eau distillée de la farine de lin fraîchement moulue, est ensemencé, après stérilisation à $+ 110^{\circ}$. Au bout de 2 jours, le tapis occupe une surface de 2 centimètres $1/2$ de diamètre ; les filaments du thalle sont longs, soyeux, blancs ; un grand nombre d'hyphes sporangifères en émergent ; elles sont très blanches, bien dressées, atteignent le 4^e jour 3 centimètres de hauteur et sont terminées par des sporanges sphériques très noirs. Peu ou pas de ramifications de ces sporophores, un certain nombre de sporanges sessiles sur les pédicelles principaux. La vitalité du *Mucor nigrans* se conserve très longtemps sur ce support. Avec une culture âgée de 20 mois, nous avons ensemencé une Carotte et une Pomme de terre glycinée ; la culture sur Carotte donne, le 4^e jour, des sporangiophores atteignant 2 centimètres de longueur et portant à leur extrémité terminale des sporanges mûrs. Sur la Pomme de terre glycinée, un retard de 24 heures dans le début de la végétation confirme le fait, déjà signalé, à propos de ce substratum dont le *Mucor nigrans* s'accommode moins bien.

Profitant des qualités du milieu nutritif constitué par la farine de lin, nous l'avons mis à profit pour obtenir d'abondantes cultures. Placées à la température du laboratoire, ces cultures nous ont montré l'influence que le froid exerce sur l'aspect de la végétation du *Mucor*. Au cours des derniers hivers, nous avons observé d'intéressantes variations de la couleur des sporanges allant du blanc au noir plus ou moins foncé en passant par le bleu pâle, le bleu foncé, le violet tendre, le rose, le rouge rougeâtre, le brun rosé, le brun clair, le gris, le gris rougeâtre. Il est à remarquer que ces variations de couleur sous l'influence de l'abaissement de la température et du vieillissement semblent spéciales aux cultures sur farine de lin ; du moins n'avons-nous rien constaté de pareil sur

les autres milieux concurremment expérimentés à ce point de vue.

9. — *Sur racine de réglisse.* — Le champignon pousse si vigoureusement qu'on obtient une arborescence de filaments très blancs terminés par des sporanges noirs ; le tout forme une masse dont la hauteur atteint parfois 13 à 14 centimètres. Nous avons obtenu ces cultures dans de grands récipients, bien aérés, semblables à ceux qui sont utilisés pour les cultures de la Mycothèque de l'Ecole Supérieure de Pharmacie de Paris. L'organisme ne tarde pas à végéter et donne en dix jours une forêt de filaments blancs, pointillés de sporanges noirs dès le cinquième ou sixième jour. Ces pédicelles sporangiaux sont fréquemment ramifiés ; les rameaux secondaires dépassent souvent l'hyphe initiale, les sporanges qui les terminent sont quelquefois de couleur brune. C'est au bout de 25 à 30 jours que la hauteur de la culture atteint son maximum. L'examen microscopique ne présente pas de particularités.

10. — *Albumine d'œuf.* — Ce milieu azoté sert à déceler la sécrétion de trypsine par l'organisme qui fait l'objet de l'expérimentation. Cet enzyme transforme l'albumine en albumose et peptone.

Le *Mucor nigrans*, ensemencé sur ce substratum, ne manifeste sa végétation que le troisième jour par une toute petite colonie blanche ; ce n'est que le 10^e ou 12^e jour qu'apparaissent les appareils reproducteurs, ils sont lents à végéter. Le thalle présente des formes toruleuses ; tout cela démontre que le milieu convient peu à la *Mucorinée*. Même après un mois de séjour dans l'étuve, on ne constate pas de liquéfaction, ni même de modification dans l'opacité du substratum.

11. — *Serum coagulé.* — Mêmes caractères généraux que sur l'albumine.

12. — *Bouillon gélatiné en tube.* — Le premier jour, apparition de petites colonies discoïdes qui confluent et deviennent duveteuses vers le troisième jour.

Les filaments du thalle sont normaux, vigoureux, on n'y rencontre pas de champignons. Les appareils reproducteurs apparaissent le quatrième jour ; l'hyphe, de dimensions supérieures aux filaments mycéliens, se termine par un sporange le 5^e jour. La liquéfaction commence à ce moment, elle s'accélère les jours suivants pour être complète le dix ou douzième jour. En piqûres, la liquéfaction ne débute que le douzième jour ; au bout de quarante-cinq jours, la moitié seulement du substratum est liquéfiée. La différence considérable dans les progrès de cette action liquéfiante ne peut être attribuée qu'à la disproportion des surfaces.

13. — *Bouillon gélosé.* — En piqûres, des colonies en petit mamelon soyeux apparaissent en trente heures. Au bout de trois jours, la surface du milieu est envahie entièrement par un duvet blanc ; les sporangiophores n'en émergent que le huitième jour. Le *Mucor nigrans* ne liquéfie pas la gélose.

14. — *Raulin normal gélatiné.* — Ce support convient très bien à notre organisme. Au bout d'un jour, la végétation est abondante, formée d'une colonie, d'un beau blanc, ayant deux millimètres de diamètre, avec, au centre, un petit disque incolore. Le second jour, elle s'est étalée, légèrement déchiquetée ; le gazon est dense ; les filaments du thalle sont enchevêtrés, ils n'ont pas de cloisons. Entre le troisième et le quatrième jour, les hyphes sporangiales en émergent ; quelques-unes déjà se terminent par un sporange, mûr le cinquième. A ce moment, la portion supérieure du substratum présente une certaine mobilité. Cette liquéfaction débutante ira s'accroissant insensiblement pour être entière à la fin du second mois.

15. — *Raulin neutre gélatiné.* — Liquéfaction retardée de vingt-quatre à trente heures.

B. — MILIEUX LIQUIDES.

1. — *Décoction de pruneaux.* — Ce milieu s'obtient en faisant bouillir pendant 1 heure ces fruits secs dans de l'eau distillée. Nous avons employé 120 gr. de pruneaux pour obtenir un litre de liquide nutritif filtré. Ce milieu est très favorable à la culture du *Mucor*. Le début de la végétation se caractérise par une colonie blanche duveteuse ayant 1 millimètre $\frac{1}{2}$ de diamètre au bout d'un jour ; la surface du liquide se trouve complètement envahie entre le 4^e et le 5^e jour ; à cette date, de nombreux sporanges sont déjà mûrs. Ainsi que sur les autres milieux sucrés, les caractères microscopiques sont identiques. Nous avons multiplié les examens, afin de ne pas laisser échapper le phénomène de reproduction sexuée. C'est, en effet, sur ce substratum que la plupart des zygosporos décrites par BAINIER [3] se sont formées. Nous n'en avons pas trouvé, sans doute parce que tous les thalles de nos cultures sont de même signe sexuel.

2. — *Bouillon pepto-glycériné glucosé.* — Notre champignon végété aisément dans ce milieu. Il donne un voile surmonté d'hyphes sporangiales le 3^e jour ; les sporanges terminaux arrivent à maturité le 5^e. La hauteur du gazon est sensiblement égale à celle qu'il acquiert sur Raulin neutre glucosé.

3. — *Décoction de foie de porc.* — Ce milieu artificiel se prépare en utilisant un morceau de foie prélevé aussitôt après l'éventrage de l'animal. Dans une capsule en porcelaine préalablement tarée, on fait bouillir pendant $\frac{1}{4}$ d'heure l'organe découpé dans le double de

son poids d'eau. L'eau d'évaporation est restituée et la différence entre le poids de la liqueur et celui du même volume d'eau distillée donne approximativement sa richesse en matières nutritives — en moyenne 6,25 ‰. Le liquide est réparti, après filtration à chaud, sur un filtre mouillé, pour séparer les globules de graisse, dans des matras. Stérilisé à l'autoclave et ensemencé, ce milieu nutritif est légèrement fluorescent ; par transparence, il est limpide. Le semis en surface montre rapidement ses premiers filaments ; la végétation est appréciable au bout du 1^{er} jour. Le second jour, les colonies sont nombreuses, formées d'un duvet blanc. Le 3^e jour, leur luxuriance les a réunies ; des sporanges portés sur de courtes hyphes non ramifiées sont mûrs, leur nombre considérable donne une apparence noirâtre à la culture. La surface totale est envahie le 4^e jour ; on y remarque des hyphes sporangiales longues de 1 centimètre, ténues, inclinées vers la partie lumineuse de l'étuve, ce qui dénote un héliotropisme marqué. Ces pédicelles, moins gros que ceux formés au début de l'expérience, conservent encore des dimensions plus considérables que les filaments du thalle ; ces derniers sont enchevêtrés et contiennent parmi les granulations du protoplasme des globules de glycogène. La quantité d'hyphes sporangiales augmente encore ; les sporanges qui les terminent sont tous mûrs entre le 5^e et 7^e jour. Vers le 25^e jour, la culture flottante s'enfonce, sous l'action de son poids, dans la liqueur, entravant toute observation.

En profondeur, le semis prolifère presque immédiatement : il émet des filaments soyeux, qui, au bout d'un jour, atteignent 1 millimètre. Le 2^e jour, les articles du thalle, réunis en flocons, nagent dans le milieu ; un dépôt au fond du matras est déjà appréciable. Les formes linéaires des filaments mycéliens font place, à partir du 4^e jour, à des formes toruleuses ; leur enchevêtrement va s'accroissant de plus en plus. Nombreux sont les globules de gly-

cogène qu'on y rencontre le 6^e jour. A mesure que l'âge de la culture augmente, la couleur opalescente du liquide disparaît ; il devient limpide au bout d'un mois, indiquant la consommation du glycogène auquel il devait sa fluorescence.

4. — *Lait*. — L'étude de la végétation de notre organisme sur ce milieu naturel a été faite en se servant de tubes à essai et non de matras. Des tubes de 20 millimètres de diamètre, contenant 10^{cc} de lait, ont été préparés selon la méthode indiquée. Au bout de 13 jours d'ensemencement, la coagulation s'est effectuée ; le *Mucor* sécrète donc une présure. Nous avons eu soin, en effet, d'ajouter au lait du carbonate de chaux destinée à saturer l'acide lactique au fur et à mesure de sa formation.

La caséine précipitée en flocons disparaît petit à petit, si on laisse le champignon continuer son action.

Le *Mucor* sécrète donc de la caséase, qui transforme la caséine en un liquide visqueux dans lequel, au bout d'un mois, la réaction du biuret décèle la présence de peptone. Cette dernière substance, terme de la transformation de l'albuminoïde qu'est la caséine, est aussi caractérisée par le précipité que le tanin acétique détermine dans ses solutions.

5. — *Raulin normal*. — Développement appréciable au bout de 36 heures. Le 3^e jour, se montrent de nombreux appareils reproducteurs. Les sporanges sont mûrs le quatrième jour ; à ce moment, la culture s'est étalée, elle couvre les deux tiers du substratum d'un voile qui a envahi toute la surface du liquide en cinq jours. Sur ce tapis blanc soyeux, on trouve des hyphes sporangiales dressées, dont la quantité augmente à mesure que vieillit la colonie. Des sporanges très noirs, c'est-à-dire arrivés à maturité, terminent ces filaments fructifères ; ils sont volumineux ;

d'autres, plus petits, portés sur des pédicelles souvent plus longs que le sporophore qui les a émis, sont remarqués six ou sept jours après l'ensemencement, ainsi que de petits sporanges sessiles.

En culture immergée, nous constatons, dès le second jour, une végétation assez luxuriante, composée de filaments blancs cotonneux nageant dans le liquide. Le cinquième jour, leur nombre est considérable, les filaments ont perdu leur forme rectiligne pour présenter des formes irrégulières. La végétation, âgée de quinze jours, constitue une masse importante de filaments enchevêtrés, présentant des formes toruleuses, dépourvus de chlamydospores.

6. — *Raulin neutre*. — Les caractères de la végétation sont à peu près semblables, sauf retard assez marqué dans le développement.

7. — *Raulin urée*. — Ce milieu est peu favorable ; en culture superficielle, au bout de six jours, on trouve quelques maigres filaments dont la croissance ne continue pas au-delà du dixième jour. Le semis en profondeur, tout aussi pauvre, présente des formes toruleuses dès le début.

8. — *Raulin sucré*. — Les caractères morphologiques observés sur le mycélium immergé dans le liquide de Raulin additionné de divers sucres seront signalés plus loin en même temps que les modifications produites dans le milieu par la consommation de l'aliment.

§ 2. Utilisation de l'aliment.

A. ACTION SUR LES HYDRATES DE CARBONE.

Pour étudier la façon de se comporter du *Mucor nigra* vis-à-vis des différents sucres, nous avons employé

le liquide de Raulin neutre, non sucré, additionné d'un vingtième de son poids de chacun des sucres à expérimenter. Contenues dans des matras, les cultures ne sont examinées qu'après quinze jours à $+ 22^{\circ}$.

1. *Saccharose*. — Le liquide de la culture ne réduit pas la liqueur de Fehling ; son pouvoir rotatoire est sensiblement de même valeur que celui d'une solution témoin. Le *Mucor nigrans* y présente une luxuriance de végétation qui permet d'affirmer que cet aliment lui convient parfaitement, et qu'il le consomme purement et simplement sans le modifier dans le milieu. La liqueur nutritive, au bout d'un mois, ne contenait aucune trace d'alcool, qui se serait développé si le saccharose, interverti par l'action diastasique du *Mucor*, avait subi ensuite son pouvoir fermentaire. Le *Mucor nigrans* ne libère donc pas d'invertine dans le milieu. Le mycélium immergé se cloisonne et tend à prendre des formes toruleuses. En général les articles sont allongés et exceptionnellement courts et ovoïdes. (Pl. III, n, o, p).

2. *Glucose*. — Le *Mucor nigrans*, ensemencé sur cet hydrate de carbone, s'y développe aisément. Examinée au bout de quinze jours, la liqueur nutritive a perdu un peu d'intensité déviatrice ; mais elle contient, en revanche, de très petites quantités d'alcool, décelables par la réaction de l'iodoforme et que nous avons trouvées égales à 1,5 pour 100.

Si l'on étudie l'évolution végétative sur ce substratum on remarque le début de la culture émergée entre le premier et le second jour ; à ce moment, une colonie blanche duveteuse mesure environ trois à quatre millimètres de diamètre. Cette colonie progresse rapidement, recouvrant presque totalement la surface du substratum d'un voile dès le cinquième jour ; on remarque en outre des sporanges, en nombre appréciable, qui sont mûrs. Le quin-

zième jour, par suite de son poids, la culture tombe au fond du matras. L'examen microscopique ne présente aucune particularité à signaler. Le semis en profondeur donne d'abondantes colonies, dont les filaments se cloisonnent abondamment au sommet en donnant les cha-pelets d'oidies qu'on observe en général chez les *Mucor* jouant le rôle de ferment alcoolique (Pl. III, *i — m*). Dans les cultures vieilles, les filaments prennent des formes de souffrance renflées, irrégulières, qui peuvent bourgeonner en filaments plus fins (Pl. III, *i*). Ces renflements sont riches en globules graisseux.

3. *Lactose*. — Cet hydrate de carbone convient moins bien que le précédent au développement de la *Mucorinée*. Un jour après l'ensemencement on ne constate aucune végétation ; très précaire le deuxième jour, elle se manifeste le troisième par une petite colonie à la surface du liquide. Manifestement en retard sur les phénomènes de la végétation qui se sont produits sur les milieux nutritifs, contenant les hydrates de carbone qui précèdent, le *Mucor nigrans* ne présente pas cependant de différences morphologiques. Il recouvre d'un voile la totalité de la surface du substratum et offre des sporanges mûrs le douzième jour.

En culture immergée, la végétation est plus vigoureuse ; elle forme un amas blanchâtre floconneux, d'une certaine importance trois jours après l'ensemencement ; le huitième jour, un notable dépôt repose sur le fond du matras. Les filaments, blancs, soyeux, sont enchevêtrés, ils sont sinueux, tourmentés, n'affectant presque jamais de formes rectilignes. Le pouvoir rotatoire de la liqueur ne change pas ; l'acétate de cuivre n'est pas réduit (absence de glucose) ; comme le saccharose, le lactose est donc directement assimilé par le *Mucor nigrans*. Il en est de même du galactose.

4. *Maltose*. — Paraît être un très bon aliment ; dès le second jour, une culture très nette, formée d'un petit disque blanc nage à la surface du liquide. Les hyphes sporangiales terminées par des sporanges en formation se dressent dès le quatrième jour. En dix jours, la culture a envahi la totalité de la surface du substratum et les appareils fructifères sont nombreux et mûrs. En profondeur, les filaments mycéliens sont enchevêtrés, ils sont plus ou moins déformés, cloisonnés, avec quelques gouttelettes d'huile dans les vacuoles. Le pouvoir rotatoire de la liqueur restant à peu près stationnaire, le maltose n'est pas dédoublé en ses deux molécules de glucose, ce qui serait indiqué par une chute dans le pouvoir rotatoire de la liqueur nutritive.

Les diverses observations relatives à l'action du *Mucor* sur les sucres nous ayant laissé noter des différences de luxuriance dans les cultures, nous avons cru intéressant de fixer ces variations par des chiffres.

Nous avons préparé des matras contenant 20^{cc} de solution minérale de Raulin neutre dans laquelle nous avons dissous 1 gramme de chacun des hydrates de carbone : saccharose, glucose, lactose, galactose, lévulose.

Pour ensementer autant que possible la même quantité de spores, nous en avons fait une émulsion dans l'eau distillée et la même boucle de platine a servi aux divers ensementements, portés en même temps à l'étuve à 22°. Nous avons tué la récolte au bout de 10 jours, recueillie sur des filtres tarés, lavée et séchée. On peut admettre que les poids obtenus sont proportionnels à la valeur nutritive de ces divers sucres :

Saccharose.....	0 gr. 573
Glucose.....	0 gr. 561
Lactose.....	0 gr. 411
Galactose.....	0 gr. 412
Maltose.....	0 gr. 473
Lévulose	0 gr. 351

PLANCHE III.

Mucor nigrans.

Aspect du thalle en liquide de Raulin additionné de divers sucres.

EXPLICATION DES FIGURES :

- i*). Glucose ; 20 jours. Formes toruleuses dilatées avec guttules de graisse et prolifération en tubes fins.
j, k, l, m. Glucose de 2 à 15 jours. Formes toruleuses donnant des oïdies de dimensions diverses susceptibles de bourgeonner latéralement.
Saccharose ; *n*, 3 jours ; *o*, figure de droite, 6 jours, figure de gauche 15 jours ; *p*, 2 jours.
-

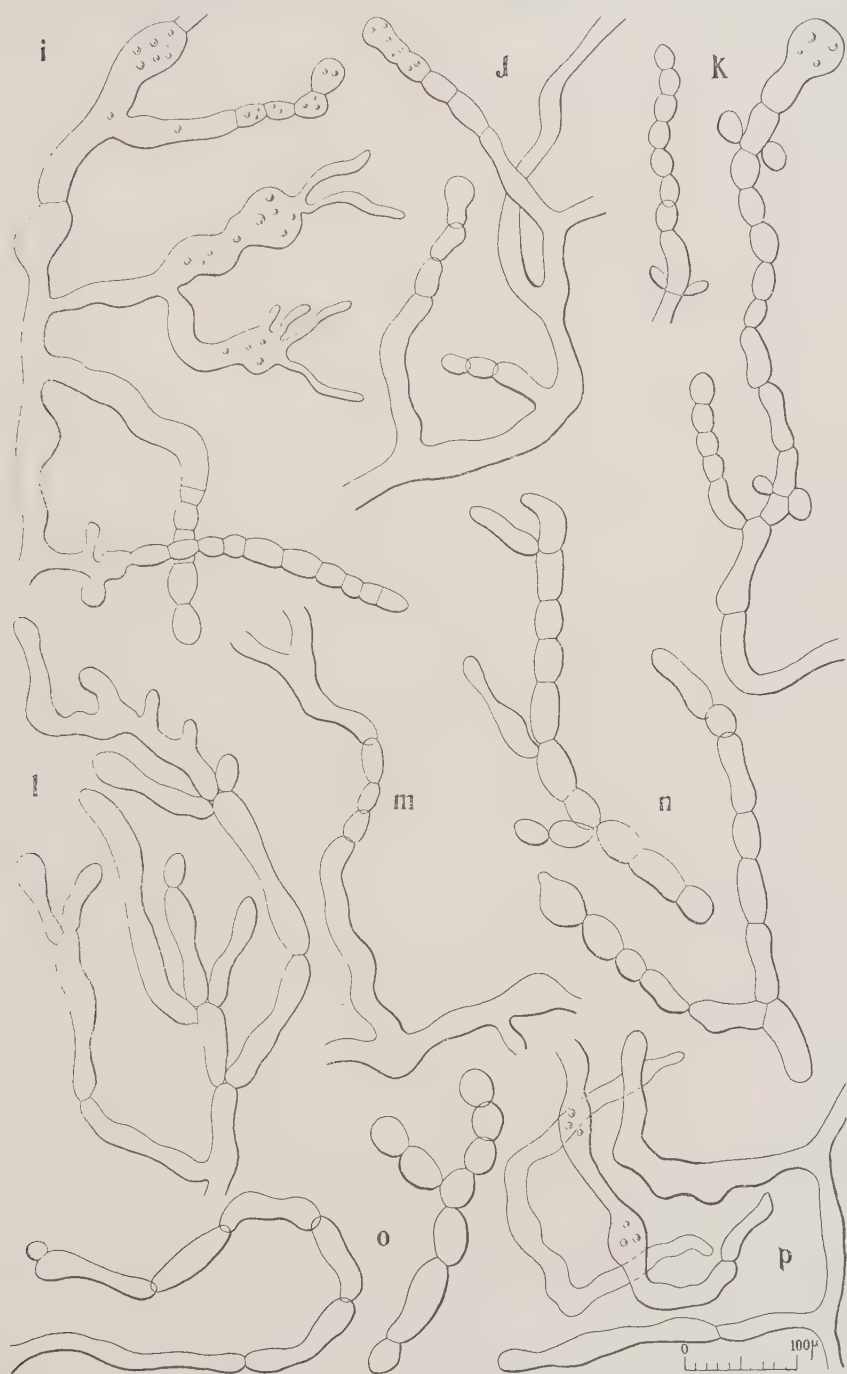


PLANCHE III.

Mucor nigrans.

5. *Empois d'amidon*. — Nous avons préparé, dans des fioles d'Erlenmayer de 100^{cc}, une gelée en prenant 16^{cc} de Raulin neutre non sucré et 4 grammes d'amidon de riz et stérilisant par tyndallisation à 70°. Après 24 heures d'ensemencement, un petit duvet blanc rayonne autour du semis ; le 2^e jour, le tapis végète vigoureusement ; il est très blanc et laisse émerger de longs filaments blancs, bien dressés, mesurant 7 à 8 millimètres, dont quelques-uns se terminent par des sporanges en formation. Ces sporanges sont mûrs le lendemain ; leur couleur noire tranche sur l'ensemble de la culture. La colonie augmente sa poussée en hauteur ; de nombreuses hyphes sporangiales dépassent les premières et lui donnent, le 4^e jour, l'aspect d'une bourre de coton. A partir de ce moment, le thalle s'accroît considérablement ; il forme un voile nettement perceptible le 5^e jour ; le 7^e, la totalité de la surface du substratum en est couverte, on y remarque un plissement régulier sous lequel la cohésion du milieu nutritif a sensiblement diminué. Le phénomène de liquéfaction s'accroît chaque jour. La colonie initiale ne s'accroît pas en surface ; elle augmente de hauteur, atteignant 3 centimètres le 8^e jour. Le 19^e jour, la moitié du substratum est liquéfiée ; le voile accuse son plissement ; le liquide sous-jacent est limpide, de couleur jaune citrin. Le 25^e jour, ce qui reste de l'empois est jaunâtre et peu consistant

Pour constater les transformations que le *Mucor* fait subir à l'amidon, nous avons employé la technique donnée par G. BERTRAND [11]. L'empois d'amidon se prépare en délayant 6 grammes d'amidon dans 10^{cc} d'eau distillée, versant ce lait dans 90^{cc} d'eau bouillante contenue dans un matras ; en agitant vivement, on obtient un empois homogène, demi-solide qui est stérilisé à l'autoclave à + 110°. Nous avons ensemencé 3 matras ainsi préparés ; au bout de 10 à 12 jours la fluidification est très nette malgré le long délai qu'elle exige pour s'opérer. Un cer-

tain nombre de tubes à essai sont remplis à moitié avec 10^{cc} d'eau distillée additionnée de 2 ou 3 gouttes de solution aqueuse d'iode à 1 $\frac{0}{10}$. Prélevant, à quelques jours d'intervalle, dans les matras de culture, 1^{cc} de liquide fluidifié, nous le portons dans les tubes contenant la solution d'iode ; nous consignons les résultats ci-dessous :

JOURS	COLORATION	TEMPÉRATURE
14 ^e	—	—
—	Bleue	+ 28°
15 ^e	id.	+ 28°
18 ^e	Violacée	+ 28°
22 ^e	Rouge	+ 28°
26 ^e	Marron	+ 28°
28 ^e	Jaune	+ 28°

Lorsque l'indicateur iodé reste inerte, nous examinons l'action du liquide, résultant de la fluidification de l'empois, sur la liqueur de Fehling. Ce réactif est énergiquement réduit. Prenant le liquide filtré, provenant de la liquéfaction de l'amidon, on l'additionne de 4 à 5 volumes d'alcool à 90° ; un précipité blanc de dextrine insoluble se produit. La liqueur filtrée est débarrassée de l'alcool, par évaporation de ce dernier au bain-marie ; ajoutant à la solution aqueuse restée dans la capsule de l'acétate de phénylhydrazine ; il se formera du maltosazone si nous nous trouvons en présence de maltose, second terme, d'après Duclaux [17], de la transformation de l'amidon. Pour obtenir la maltosazone, on prend 10^{cc} de liquide provenant de la liquéfaction de l'amidon, on y ajoute 40^{cc} d'alcool à 96°. La liqueur filtrée est débarrassée de la dextrine, est privée de son alcool par évaporation au B. M. ; on mélange la liqueur restée dans la capsule avec 5^{cc} de solution d'acétate de phénylhydrazine. Ce mélange, introduit dans un tube à essai, est chauffé pendant une heure au B. M. ; en refroidissant, ce liquide jaunâtre laisse déposer des cristaux de maltosazone, qui sont solubles dans l'eau distillée bouillante, très solubles dans l'alcool méthylique.

Examinés au microscope, ces cristaux sont identifiés et reconnus être bien le maltosazone. Le *Mucor niger* transforme donc la dextrine en maltose. Son action prolongée ne modifie plus les propriétés optiques de la liqueur, ou son pouvoir réducteur, vis-à-vis du réactif cupro-potassique ; le maltose est laissé intact. La moisissure agissant sur la gelée d'amidon, en produit la liquéfaction, la transforme en dextrine et cette dernière est dédoublée en maltose qui devient le terme final de l'action diastasique du *Mucor* ; la liqueur, en effet, ne réduit pas l'acétate de cuivre, ce qui y démontre l'absence de glucose.

En résumé, le *Mucor nigrans* peut attaquer l'amidon et saccharifier les dextrines jusqu'au terme maltose.

TROISIÈME PARTIE

Etude comparative du *Mucor racemosus* Fres. et du *Mucor nigrans* nov. sp.

Le *Mucor nigrans* possédant un certain nombre des propriétés biologiques du *Mucor racemosus* Fresenius, nous avons jugé intéressant de nous livrer à une étude comparative des deux espèces.

Ayant étudié un certain nombre d'échantillons de *Mucor racemosus*, nous donnons la description de ces divers échantillons.

***Mucor racemosus* Fresenius.**

(*Chlamydomucor racemosus* Brefeld).

Mycélium dont la végétation étouffée produit des oïdies en forme de levures.

Hyphes sporangifères septées, bifurquées ou irrégulièrement rameuses, hautes de 4000 à 5000 μ .

Sporanges terminaux globuleux de 30 à 60 μ , jaune pâle, à peine visible à l'œil nu, à columelle ovale.

Spores globuleuses ovoïdes, 5-8 μ sur 4-5 μ , hyalines.

Chlamydospores abondantes, tant dans le thalle que dans le sporophore, jaunâtres, lisses, affectant tantôt la

forme sphérique ovoïde, tantôt la forme ellipsoïdale ou en tranchet, de 11-20 μ sur 20-30 μ .

Saprophyte très commun sur les matières amylacées et sucrées.

ECHANTILLON I.

(provenant de l'Institut Pasteur).

Ce *Mucor* nous a été donné par M. SARTORY. Il était étiqueté : *Mucor racemosus* Fresenius, type.

En voici la description :

Sporangiophores septés, irrégulièrement rameux, formant un gazon jaune brunâtre n° 0146 CC (1), hauts de 4500 à 4800 μ en moyenne sur 8 à 12 μ de large.

Sporanges terminaux globuleux, inégaux, à membrane lisse présentant des nodosités d'oxalate de chaux, de grosseurs très inégales variant de 25 à 70 μ de diamètre, couleur jaune clair. La membrane n'est pas diffluente, elle se brise facilement et laisse une collerette; columelles ovoïdes de dimensions variables, 17 à 60 μ de longueur sur 10 à 40 μ dans leur plus grande largeur. Spores elliptiques mesurant 5-8 μ sur 6-10. Chlamydospores très nombreuses, aussi bien dans le mycélium que dans le sporophore, les unes incolores, les autres de couleur jaune, de formes très diverses : ellipsoïdales, ovoïdes, 10-30 μ de long sur 12-18 μ de large. Pas rencontré de zygospores.

ECHANTILLON II.

(Isolé par M. SARTORY, d'un fromage de Munster).

Hyphes sporangifères septées, bifurquées ou irrégulièrement rameuses, mesurant 3500 à 4500 μ ; sporanges terminaux globuleux ayant 35-55 μ de diamètre, de couleur jaune, n° 128 CC au début, columelles mesurant

(1) CC désigne le Code des Couleurs de KLINGSIECK et VALETTE.

15-40 μ de long, 6-10 μ de large à la base, spores nombreuses, globuleuses, ovoïdes, hyalines, 5-8 μ sur 4-5 μ , chlamydospores très nombreuses, développées partout, ovoïdes, ellipsoïdales, affectant la forme de tonnelets, 18-25 μ de longueur, 11-16 μ de large, à membrane lisse. Ne nous a pas donné de zygospores.

ECHANTILLON III.

(Trouvé par nous sur une gelée d'amidon).

Il présente les mêmes caractères que les types précédents : sporangiophores serrés, dressés, rameux, hauts de 4000 à 4900 μ sur 8-20 μ de large. Toutes les ramifications sont terminées par des sporanges de grosseurs inégales, le plus souvent sphériques, à membrane lisse de couleur jaune, 20-50 μ de diamètre. Columelles ovoïdes, conservant une collerette formée par la membrane du sporange. Spores elliptiques, 5-8 μ de large sur 6-10 μ de long, ayant une légère couleur jaune lorsqu'elles sont amassées. Chlamydospores nombreuses dans les filaments fructifères et mycéliens, fréquemment en tonnelets ou ellipsoïdales.

ECHANTILLON IV.

(Isolé par nous du crottin de cheval).

Thalle présentant les mêmes caractères que les types précédents. Le gazon formé est un peu plus foncé, jaune brunâtre, de 4500 à 5000 μ de hauteur. Les sporanges terminaux des hyphes principales ou secondaires sont globuleux, à membrane lisse, très inégaux, 15-60 μ de diamètre. Les spores ovoïdes, de 5-7 μ sur 5-6 μ , sont hyalines lorsqu'elles sont isolées. Les chlamydospores, très nombreuses, sont lisses, elles affectent la forme de cylin-

dres renflés en leur milieu, 20-30 μ de long sur 12-20 μ de large. Nous n'avons pas trouvé de zygosporos.

Cultivés sur différents milieux, solides et liquides, ces divers échantillons nous ont donné des résultats sensiblement identiques.

1. *Carotte*. — La végétation se caractérise par un duvet blanchâtre, très peu saillant au bout d'un jour ; sa coloration passe au jaune pâle dès le troisième. L'apparition des sporanges terminaux demande sensiblement le même laps de temps que lorsqu'il s'agissait du *Mucor nigrans*. La colonie a envahi la totalité du substratum, qui se trouve recouvert d'un tapis serré, jaune d'abord, puis jaune sale, tirant sur le brun au bout d'un mois de végétation. A ce moment, un grand nombre de sporanges ayant libéré leurs spores, il est fréquent de rencontrer dans le sporophore, quelquefois dans la columelle même, des chlamydospores. Ces organes de reproduction n'ont jamais été trouvés dans les cultures semblables de *Mucor nigrans* ; ces dernières, beaucoup plus importantes comme volume, ne varient pas de couleur d'une façon si marquée, le mycélium se forme par suite de l'accroissement du nombre des sporanges noirs, pour passer du gris blanchâtre au gris noirâtre, sans prendre de couleurs intermédiaires.

2. *Pomme de terre simple*. — Ce milieu convient presque autant que la carotte au développement végétatif du *Mucor racemosus*, ce qui n'est pas absolument exact pour le *Mucor nigrans*. Sur ce substratum, la gamme des couleurs est plus nettement marquée, la coloration jaune de la culture tranche davantage sur la blancheur du substratum.

Sur *pomme de terre glycinée*, la végétation du *Mucor racemosus* n'est pas retardée comme celle du *Mucor ni-*

grans. Sur ce milieu nutritif, les sporophores présentent des ramifications courtes qui leur sont presque perpendiculaires.

3. *Pomme de terre acide*. — L'acide lactique à la dose de 2⁰/₀ a pour effet de retarder la végétation du *Mucor racemosus* ; ainsi qu'il le faisait pour le *Mucor nigrans*, cet acide détermine l'apparition de formes de souffrance. Le nombre des chlamydospores rencontrées dans la culture de *Mucor racemosus* est sensiblement plus élevé ; on en trouve tout aussi bien dans les filaments du thalle que dans les hyphes sporangiales ; nous n'en avons jamais rencontré chez le *Mucor nigrans*, placé dans les mêmes conditions.

4. *Topinambour*. — Ainsi que pour le *Mucor nigrans*, ce support convient moins bien au développement luxuriant du *Mucor racemosus*, bien qu'il lui soit cependant plus propice que la pomme de terre acide.

5. *Banane*. — Sur ce milieu, les semis de *Mucor racemosus* évoluent rapidement, comme on l'observe pour le *Mucor nigrans*.

6. *Racine de réglisse*. — Là aussi, le *Mucor racemosus* prend des dimensions qui ne se retrouvent sur aucun des autres substratums ; la hauteur du gazon y peut atteindre quatre ou cinq centimètres.

7. *Albumine d'œuf*. — Tout comme le *Mucor nigrans*, les divers échantillons de *Mucor racemosus* croissent assez mal sur ce milieu, et ne sécrètent pas de trypsine.

8. *Bouillon gélatiné*. — Le *Mucor racemosus* exerce sur la gélatine une action liquéfiant un peu moins rapide que celle produite par le *Mucor nigrans* ; alors que ce der-

nier, ensemencé en stries, a liquéfié la totalité du tube dans un laps de temps qui n'excède pas douze jours, le *Mucor racemosus* en exige quinze pour un résultat semblable.

La gélose n'est pas davantage liquéfiée par le *Mucor racemosus* que par le *Mucor nigrans*.

9. *Amidon*. — Le *Mucor racemosus* se développe aisément sur ce milieu nutritif; il y forme un gazon, jaunepâle les premiers jours, de quatre à cinq millimètres de saillie. La liquéfaction est plus rapide sous son influence que sous celle du *Mucor nigrans*. Il transforme l'amidon en dextrines, puis ces dernières en maltose; son action, comme pour le *Mucor nigrans*, s'arrête à ce terme; mais la transformation totale de l'amidon en dextrine, qui exigeait 28 à 30 jours avec le *Mucor nigrans* est opérée par le *Mucor racemosus* dans l'espace d'une quinzaine de jours seulement.

10. *Décoction de pruneaux*. — Ensemencé en profondeur, le *Mucor racemosus* prolifère rapidement dans ce milieu; comme pour le *Mucor nigrans*, les filaments mycéliens se cloisonnent, mais la formation de chlamydospores, constante pour le *Mucor racemosus*, n'a pas eu lieu pour le *Mucor nigrans*.

11. *Moût de bière*. — Ensemencé dans ce milieu, le *Mucor racemosus* y vit très bien, il y développe la fermentation alcoolique. Ses filaments mycéliens fortement cloisonnés, s'accroissent par additions successives de cellules elliptiques qui se séparent les unes des autres, se répandent au sein du liquide où elles bourgeonnent à la façon des cellules de levure.

C'est dans ce milieu que le *Mucor racemosus* produit la plus forte proportion d'alcool qu'il soit susceptible d'engendrer et qui est égale à 4,50%. Le *Mucor nigrans* s'y

comporte aussi très bien, mais n'y donne qu'une proportion d'alcool environ trois fois moindre.

12. *Lait*. — De même que le *Mucor nigrans*, le *Mucor raeemosus* végète mal dans ce milieu. Il y sécrète également de la présure et de la caséase ; mais ses filaments mycéliens, à membrane épaissie, contiennent des chlamydospores que n'y donne jamais le *Mucor nigrans*.

13. *Liquide de Raulin normal*. — Le *Mucor racemosus* y végète aisément et y forme un ilot duveteux dès le premier jour ; l'apparition des sporanges le troisième jour lui donne un aspect jaune-pâle, l'épaisseur de la culture ne dépasse pas quatre millimètres.

Au sein du liquide flottent des filaments enchevêtrés formant, au bout de 6 à 7 jours, au fond du matras, un dépôt notable. La présence de nombreuses chlamydospores contribue à le différencier du *Mucor nigrans*, dont la végétation émergée est d'ailleurs beaucoup plus importante.

Action sur les hydrates de carbone.

Saccharose. — Le *Mucor racemosus*, pas plus que le *Mucor niger*, n'intervertit ce sucre.

Glucose. — Le *Mucor racemosus* fait subir à ce sucre la fermentation alcoolique, mais la quantité produite est minime ; il forme dans la solution de nombreuses chlamydospores et oïdies.

En résumé, nous pouvons observer dans les propriétés morphologiques et biologiques du *Mucor nigrans* et du *Mucor racemosus*, à côté de caractères communs qui doivent faire ranger le *Mucor nigrans* dans le stirpe du

PLANCHE IV.

Mucor racemosus Fresenius.

EXPLICATION DES FIGURES.

- FIG. 1.— Portion de thalle avec sporanges à divers états ; quelques-uns, déhiscent, sont réduits à leur columelle entourée à la base d'une colerette. (Culture de 6 jours sur carotte).
- FIG. 2.— Sporange dont l'immersion a produit l'avortement (liquide de Raulin, 9^e jour).
- FIG. 3.— Chlamydospores.
- FIG. 4.— Oïdies sur un thalle croissant en profondeur (liquide de Raulin, 10^e jour).
- FIG. 5.— Thalle submergé (liquide de Raulin, 7^e jour).
- FIG. 6.— Mêmes formations plus âgées (liquide de Raulin, 17^e jour).
-

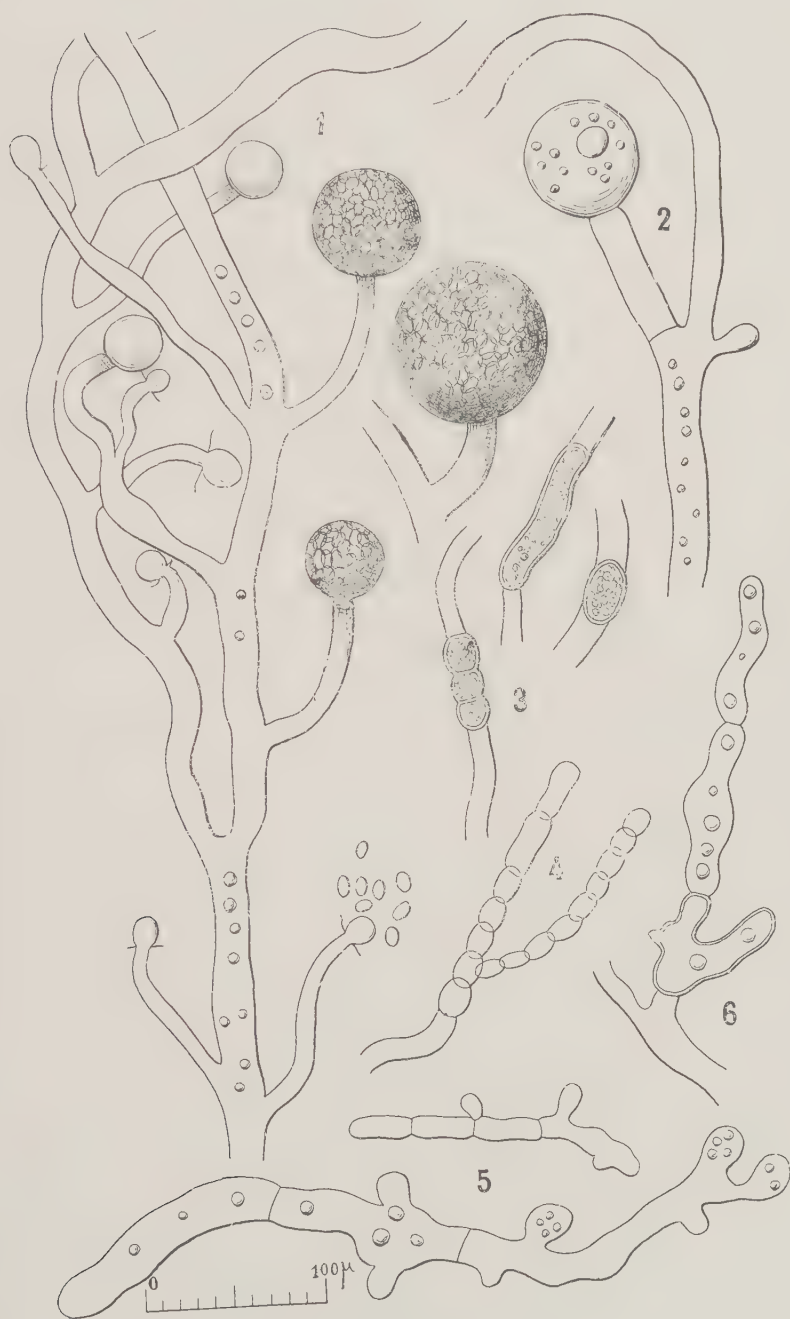


PLANCHE IV.

Mucor racemosus.

Mucor racemosus, des différences constantes qui permettent de les séparer.

Nous les résumons dans le tableau qui suit :

Mucor nigrans sp. nov.

Mucor racemosus Fres.

Sporangiophores.

Très blancs, de 3 à 6 centimètres de hauteur.

Jaunâtres, hauts de 4 à 5 millimètres.

Ramifications scorpioïdes.

Ramifications en grappes.

Sporanges.

Gros, brunâtres, très noirs à maturité, n° 575 C.C.; 45 à 120 μ de diamètre.

Petits, jaune pâle, jaune brunâtre, n° 146 C.C., lorsqu'ils sont mûrs; 20 à 70 μ de diamètre.

Membrane du sporange.

Membrane *diffluente*.

Membrane *non diffluente*, mais fragile.

Columelle.

Columelle ordinairement ovale, allongée ou piriforme, de couleur jaunâtre ou bistre.

Columelle libre, sphérique ou ovoïde, à peine teintée de jaune.

Spores.

Jaunâtres quand elles sont isolées, fuligineuses vues en masse; sphériques ou ovales, régulières, mesurant: sphériques, 6-7 μ ; ovales, 6-7 $\times$ 10-8 μ .

Incolores quand elles sont isolées, jaunâtres vues en masse, rarement sphériques, sensiblement égales, 4-4 $\times$ 5-8 μ .

Chlamydospores.

Rares, ne s'observant que dans les filaments immergés, en milieux agités ou additionnés d'acides ou d'alcalis; la quantité de chlamydospores augmentant avec la proportion d'acide.

Très abondantes sur tous les milieux et dans toutes les parties de la plante dans les conditions ordinaires de vie.

Zygospores.

Inconnues.

Abondantes.

Les propriétés biologiques de ces deux *Mucor* ne présentant pas de différences considérables, nous avons comparé leurs pouvoirs fermentaires respectifs.

Nous avons essayé de réaliser une aération considérable en introduisant le récipient contenant le milieu fermentescible dans un grand cristalliseur de forme basse, à couvercle rodé.

Avec le *Mucor nigrans*, la quantité d'alcool, développée dans le liquide de Raulin neutre à 5% de glucose, est de 0,835 %; avec le *Mucor racemosus*, elle est de 1,81 %; quantités mesurées en volume après 20 à 25 jours d'ensemencement.

Les mêmes expériences ont été faites avec du moût de bière. La fermentation y est très lente; il faut attendre trois mois pour obtenir le rendement maximum; soit avec le *Mucor racemosus*, 4,4 à 4,5; avec le *Mucor nigrans*, 1,542. L'écart entre ces deux pouvoirs est considérable et vient corroborer les différences morphologiques précédemment signalées.

D'autres espèces de *Mucors* sont des ferments alcooliques d'activité variable: le *Mucor Mucedo* [36], dans le moût de bière, donne d'après HANSEN [27]:

0,4 vol. d'alcool p. ‰	après 15 jours
3 vol. — —	6 mois

Le *Mucor spinosus* (Van Tieghem) [53] possède à peu près le même pouvoir zymotique.

Le *Mucor circinelloides* (Van Tieghem) [52] donne, dans les mêmes conditions de milieu et de temps, 4 vol. p. ‰ d'alcool; dans le moût de vin, la proportion atteint 4,7.

Le *Mucor erectus* (Bainier) [4] est beaucoup plus actif: en deux mois et demi, il donne en effet, d'après HANSEN [27], 8 vol. d'alcool p. ‰.

Le **Mucor nigrans** semblerait donc constituer un ferment alcoolique faible d'un pouvoir ferment inférieur à celui du *Mucor circinelloides*, dont il présente accidentellement quelques ramifications incurvées qui ressemblent à celles de cette dernière espèce; mais les autres caractères morphologiques sont bien différents. La hauteur de ses sporangiophores qui se montrent les plus développés de ceux qu'on peut observer chez les *Mucor* ramifiés du type *racemosus*, l'en distingue nettement. Ce caractère, qui s'observe le mieux sur un milieu favorable comme le bois de réglisse, compte d'ailleurs parmi ceux qui distinguent le mieux le *Mucor nigrans* des autres *Mucor*.

CONCLUSIONS.

Le Champignon que nous avons étudié constitue une espèce nouvelle du groupe des Mucorinées. Nous proposons pour cette espèce le nom de **Mucor nigrans** nov. sp., avec la diagnose suivante qui en résume les caractères :

Mucor nigrans nov. sp. *Char. morph.* — Mycelio repente continuo, albido griseo; hyphis fertilibus 3000-6000 μ plusve altis, 14-16 μ latis, niveis, continuis, cymo unipari parèe ramosis.

Sporangiis sphæroideis, inæqualibus, 45-120 μ latis, primum luteis, demùm atris, tenuissimis acubus oxalati calcis undique vestitis, in aqua dissilientibus, nisi collario in columella adhærescente; sporangiis lateralibus sæpè sessilibus.

Columella apice lutescente aut fuscescente, pyriformi, nec non ovata, 15-40 μ diam.

Sporis levibus, præcipuè sphæroideis, 6-7 μ , rarius ellipsoideis, 8-10 $\times$ 6-7 μ , lutescentibus.

Gemmis haud communis, nisi in substraminibus acidis. Zygosporis ignotis.

Charact. biol. — In substraminibus idoneis facillimè crescit, velo pubescente primum albido, dein sporangiis nigrepunctato.

Gelatina liquefacta; lacte coagulato dein digesto; albuminã neque sero bovino, nec urea modificatis.

Amylo cocto liquefacto, maltosoque mutato. Inulina intacta. Glucoso (nec lævuloso neque saccharoso) in alcohol parcè mutato, 1,5 $\frac{0}{10}$.

Submersione, thallum septatum oidia numerosa instructum.

Hab. — In fructibus, tuberibus et substantiis organicis diversis putrescentibus. In Gallia.

Vu, bon à imprimer :

Le Président de la Thèse,
RADAIS.

Vu :

Le Directeur de l'Ecole :
H. GAUTIER.

Vu et permis d'imprimer :

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris :
LIARD.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.

1. BAIL (Th.). — *De faece cerevisiæ* (Dissertatio inaugur.)
Traduct. allem. in *Flora* : Ueber Hefe, 1857.
2. BAINIER (G.). — *Etude sur les Mucorinées*. — Thèse Ecole
supérieure de Pharmacie, Paris 1882 (F. Pichon et A.
Cotillon).
3. BAINIER (G.). — *Observations sur les Mucorinées et les*
Zygospores des Mucorinées (Ann. des Sc. nat., 6^e série,
XV, 1883).
4. BAINIER (G.). — *Mucor erectus* (Ibidem, t. VIII, 1884, p. 207).
5. — *Mucor fragilis* (Ibid., XIX, 1884, p. 208).
6. BARY (Anton de). — *Beiträge zur Morphologie und Physio-*
logie der Pilze (Abhandl. der Senckenberg'schen naturf.
Gesellschaft zur Frankfurt a M. 1^{re} série, 1864).
7. BARY (Anton de). — En collaboration avec WORONIN (Ibid.,
2^e série, 1866).
8. BLAKESLEE (A.F.). — *Sexual reproduction in the Mucorinæ*
(Proceedings of the Amer. Acad. of Art. and Sc. XL.
aug., 1904).
9. BARTHELAT (G.-J.). — *Les Mucorinées pathogènes et les Mu-*
cormycoses chez l'homme et les animaux (Thèse Fac.
Méd., Paris, 1903, de Rudeval).
10. BEAUVIERIE (J.). — *Etudes sur le polymorphisme des Cham-*
pignons ; influence du milieu (Thèse Doct. Sc. nat. Paris,
1900. Rey, Lyon), p. 147).
11. BERTRAND (G.) et THOMAS, P. — *Guide pour les Manipula-*
tions de Chimie biologique, Paris, 1910. Dunod et
Pinat), pp. 23-236.

12. BREFELD (O.). — *Mucor racemosus und Hefe* (Flora), 1873.
13. — *Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze* (I, Leipzig, 1872).
14. BOLLINGER (O.). — *Vorträge über Infektionskrankheiten* (1882).
15. BOURQUELOT (E.). — *Les Ferments solubles (diastases-enzymes)* (Société d'éditions scientifiques, Paris, 1896).
16. COHN (F.). — In Lichtheim *Ueber path. Mucor (Mucor corymbifer)* (Schroeter Krypt., Flor., 1884, p. 205).
17. CROOKSHANK (E.-M.). — *An introduction to practical Bacteriology based upon the methods of Kock* (H. K. Lewis, London, 1886, p. 246).
18. DUCLAUX (E.). — *Traité de Microbiologie* (G. Masson, Paris, 1899) (*Liquéfaction de l'amidon*, t. II, pp. 391-394). *Fermentation alcoolique*, t. III, pp. 15-18).
19. EHRENBURG (C.-F.). — *Rhizopus* (Nova acta Acad. Léop., t. X, 1, 1820, p. 198).
20. FRESSENIUS (G.). — *Beiträge zur Mykologie (Mucor racemosus)*, p. 12, pl. 1, fig. 24 (Heinrich Ludwig Bronner, Frankfurt, 1850).
21. GAYON (U.). — *Sur les moisissures et la fermentation alcoolique* (C. R., t. LXXXVI, 1878, pp. 52-54).
22. GRIMBERT (L.). — *Diagnostic des bactéries par leurs fonctions biochimiques* (Thèse, Fac. Méd., Paris, 1903).
23. GUÉGUEN (F.). — *Sur l'emploi des bleus pour coton et pour laine, dans la technique mycologique* (Bull. Soc. Mycol. Fr., XXI, 1905, pp. 42-46).
24. GUÉGUEN (F.). — *Emploi du Sudan III comme colorant mycologique, seul ou combiné au bleu coton et à l'iode* (Ibid., XXII, 1906, pp. 124-226).
25. GUÉGUEN (F.). — *Préparation instantanée des solutions colorantes lipidiques* (Soc. Biol., LXIV, 1908, p. 344).
26. GUÉGUEN (F.). — *Recherches sur le Mucor sphærosporus*, HAGEM (Journal de Botanique, 2^e série, t. II, 1909, 22^e année).
27. HANSEN (E.-C.). — *Recherches sur la Physiologie et la Morphologie des Ferments alcooliques* (Comptes-rendus des travaux du laboratoire de Carlsberg, vol. 5, série 2, 1902 ; Ibidem, t. II, 5^e liv., 1888).

28. HOFFMANN (H.). — *Mykologische Studien über Gahrung* (Botanische Zeitung, 1860).
29. JAVILLIER (M.). — *Sur l'influence favorable qu'exercent de très petites quantités de zinc sur la végétation de l'Aspergillus niger* CRAMER (Bull. Soc. Pharmacol., XIV, 1907, pp. 694-698).
30. KLEBS (G.). — *Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen* (léna, G. Fischer. 1896).
31. KLEIN (J.). — *Zur Kenntniss des Pilobolus* (Jahrbücher für wissentench. Botanik., t. VIII, 1872, pp. 362-76).
32. KUNZE (G.). — *Mycologische Hefte (Phycomyces, vol. II, 1823, Leipzig, G. Voss., p. 113).*
33. LENDNER (Alf.). — *Les Mucorinées de la Suisse* (Berne, Wyss., 1908, pp. 14, 50-51. *Mucor heterogamus* Vuillemin, p. 73).
34. LE RENARD (Alf.). — *De l'action des toxiques sur les Mucorinées* (Journal Bot., 2^e série, t. II, 22^e année, pp. 170-188).
35. LINDT (W.). — *Mittheilungen über einige neue pathogen Schimmelpilze* (Arch. f. experiment. Pathol. und Pharmak., t. XXI, 1886. *Mucor pusillus*, p. 272, fol. II et III, fig. 1-6).
36. LINNÉ. — *Spec. plant. (Mucor Mucedo, t. II, 1762, p. 1655).*
37. LINK (H.-F.). — *Observationes in ordines naturales* (Berlin, 1809).
38. LUTZ (L.) et GUÉGUEN (F.). — *De l'unification des méthodes de culture pour la détermination des Mucédinées et des Levures* (Congrès internat. de Bot. à l'Exp. univ. de 1900, Paris, Extrait des comptes-rendus, pp. 415-423).
39. MANGIN (L.). — *Observations sur la membrane des Mucorinées* (Journal de Bot., t. XIII, 1899, pp. 209-216-276).
40. MICHELI (P.-A.). — *Nova plantarum genera juxta Tournefortii methodum disposita* (Florentiæ, 1729).
41. MIQUEL (P.) et CAMBIER (R.). — *Traité de Bactériologie pure et appliquée* (Paris, 1902, Naud., pp. 114-125, 146-147).

42. RAULIN (J.). — *Etudes chimiques sur la végétation. Recherches sur le développement d'une Mucédinée dans un milieu artificiel* (Thèse, Fac. Sc., Paris, 1870, pp. 115, 117, 201, 203).
 43. RAY (J.). — *Variations des champignons inférieurs sous l'influence du milieu* (Thèse, Fac. Sc., Paris, 1897).
 44. RAYBAUD (L.). — *Action des rayons ultra-violet sur les moisissures* (Soc. Biol., 15 février 1910).
 45. RUSSELL (H.-L.). — *The affect of mechanical movement upon the growth of certain lower organisms* (Bot. Gaz., XVII, 17, 1892; p. 8-15).
 46. SALOMONSEN (C.-J.). — *Technique élémentaire de Bactériologie* (Paris, Rueff et Co, 1891).
 46. SARTORY (A.). — *Etudes expérimentales de l'influence l'agitation sur les champignons inférieurs* (Thèse, Fac. Sc., Paris, 1908, pp. 11, 12, 13, 14, 15, 133, 134).
 48. SCHOSTAKOWITSCH (W.). — *Mucor de Baryanus* (Berichte d. deutschen bot. Gesellschaft, Bd., XV, Heft 8, 473, pl. XXIII, fig. 1-8).
 49. STERNBERG (C.). — *Zur Kenntniss des Actinomycespilzes* (Wiener, Klin. Rundschau, 1900, n° 24, pp. 540-551).
 50. TULASNE (L.-R.). — *Spec. plant. Sporodinia* (C. R. Acad., Paris, 1855, t. XV, p. 617).
 51. VAN TIEGHEM (Ph.) et LE MONNIER. — *Recherches sur les Mucorinées* (Ann. des Sc. Nat., Bot., 5^e série, t. XVII, 1873, pp. 261-399. *Circinella*, p. 298).
 52. VAN TIEGHEM (Ph.). — *Nouvelles recherches sur les Mucorinées* (Ann. Sc. Nat. Bot., 6^e série, 1875, t. I ; *Mucor circinelloides*, p. 94 ; *Spinellus*, p. 66).
 53. VAN TIEGHEM (Ph.). — *Troisième mémoire sur les Mucorinées* (Ann. Sc. Nat. Bot., 6^e série, 1876, t. IV ; *Mucor spinosus*, p. 60 ; Classification de la famille des Mucorinées, p. 313 ; *Absidia*, p. 350).
-

TABLE DES MATIÈRES.

	Pages
Introduction	5
Origine des recherches.....	7
Généralités sur les Mucorinées.....	9
Technique morphologique.....	19
Technique biologique.....	30
Habitat du <i>Mucor nigrans</i>	39
Etude morphologique.....	41
Influence de la température.....	47
Influence de la lumière.....	50
Influence du mouvement.....	53
Action des agents chimiques.....	58
Influence des acides.....	61
Influence des alcalis.....	74
Influence du sulfate de cuivre.....	76
Développement sur milieux solides.	81
Développement en milieux liquides.....	89
Action sur les hydrates de carbone.....	92
Etude du <i>Mucor racemosus</i>	101
Tableau comparatif.....	109
Conclusions.....	113
Index bibliographique....	115

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE LUCIEN DECLUME, LONS-LE-SAUNIER.
